Maternale Gene und die Anlage des anteroposterioren Musters in *Drosophila* Embryonen

Dissertation

zur Erlangung des Grades eines Doktors
der Naturwissenschaften

der Fakultät für Biologie
der Eberhard-Karls-Universität Tübingen

vorgelegt von

Hans Georg Frohnhöfer
aus Auerbach

1987

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41543904_0031

Maternale Gene und die Anlage des anteroposterioren Musters in *Drosophila* Embryonen

Dissertation

zur Erlangung des Grades eines Doktors
der Naturwissenschaften

der Fakultät für Biologie
der Eberhard-Karls-Universität Tübingen

vorgelegt von

Hans Georg Frohnhöfer
aus Auerbach

1987

Tag der mündlichen Prüfung	9. Juli 1987
Dekan	Prof.Dr. W. Engels
1. Berichterstatter	Prof.Dr. F. Bonhoeffer
2. Berichterstatter	Prof.Dr. W. Seyffert

Offsetdruck Spengler
Lessingstraße 4 · 7401 Neustetten 1
Telefon (0 74 72) 2 21 45

Die vorliegende Arbeit wurde unter Anleitung von Frau Dr. C. Nüßlein-Volhard am Friedrich-Miescher-Laboratorium begonnen und im Max-Planck-Institut für Entwicklungsbiologie fertiggestellt.
Die Gene *bicoid* und *torsolike* wurden von C. Nüßlein-Volhard, G. Jürgens, K. Anderson und R. Lehmann identifiziert (unveröffentlicht). Thomas Berleth, Wolfgang Driever, Gudrun Thoma und Sibyll Richstein führten die Arbeit an *bcd.* mit molekularbiologischen Methoden fort. Durch ihre unveröffentlichten Ergebnisse konnten viele meiner Interpretationen besser abgesichert werden. Die mit *ftz-β-Galaktosidase*-Fusionsprodukt transformierten Fliegen erhielten wir von Y. Hiromi.
D. Kaiser half mir bei der Fertigstellung des Manuskripts. G. Weinraub und D. Eder ist für die Anfertigung der Zeichenarbeiten zu danken. Die Photographien wurden alle von R. Grömke-Lutz und ihren Mitarbeitern/-innen hergestellt, und J. Sauter half entscheidend bei den rasterelektronischen Aufnahmen.

Zusammenfassung

Mutationen in den maternalen Genen *bicoid (bcd)*, *exuperantia (exu)* , *swallow (swa)* und *torsolike (tsl)* eliminieren bestimmte Teile des Segmentmusters in *Drosophila* Embryonen. In *bcd* Embryonen fehlen die anterioren Strukturen - Kopf und Thorax. Stattdessen sind am anterioren Ende, mit dem Telson, die posterioren terminalen Strukturen dupliziert. Zusätzlich zu diesen anterioren Defekten treten auch im Abdomen von *bcd* Embryonen Segmentierungsdefekte auf. Bei schwachen *bcd* Allelen werden die anterioren Strukturen nur teilweise eliminiert. Je weiter vorn im anteroposterioren Muster eine Struktur ihren Platz hat, desto stärker ist sie von der Reduktion betroffen.
Auch in *exu* und *swa* Embryonen ist die Kopfregion verkleinert; daneben treten Defekte im Abdomen auf. Der Phänotyp unterscheidet sich jedoch qualitativ von dem schwacher *bcd* Allele. In *exu* und *swa* Embryonen sind die Kopfdefekte scharf auf den anterioren Teil der Kopfregion begrenzt, während die dazu posterior gelegenen Regionen vergrößert sind. Im Fall von *bcd* liegen die abdominalen Defekte im anterioren Abdomen, bei *exu* und *swa* vorwiegend im posterioren Abdomen.
tsl ist Vertreter einer Gruppe von 5 maternalen Genen mit ununterscheidbarem Phänotyp: In den Mutanten fehlen die vorderen und hinteren terminalen Strukturen, Labrum und Telson.

Veränderungen in der Gastrulation und im Expressionsmusters eines Paarregel-Gens (*fushi tarazu*) zeigen, daß sich die Phänotypen der ausdifferenzierten Embryonen in ihren wichtigsten Eigenschaften auf Anlagenplanveränderungen im Blastoderm zurückführen lassen. In *bcd* Embryonen verschwinden die Anlagen von Kopf und Thorax, stattdessen verschieben sich die abdominalen Anlagen nach anterior. In *exu* und *swa* verkleinert sich die Kopfregion, und der Thorax dehnt sich nach vorn aus. Zugleich jedoch wird die abdominale Region komprimiert, und die Thoraxregion weitet sich auch nach hinten. In *tsl* fehlen die terminalen Anlagen, und die mittlere Region expandiert in Richtung der beiden Eipole.

Durch Injektion von anteriorem Zytoplasma aus jungen Wildtyp Eiern läßt sich in *bcd* Embryonen die Fähigkeit, anteriore Strukturen zu bilden, wiederherstellen. Die damit identifizierte anteriore Zytoplasmaaktivität ist innerhalb des vorderen Fünftels des Eies lokalisiert; sie findet sich in unbefruchteten Eiern und verschwindet mit Beginn der Zellularisierung; die Menge der Aktivität wächst etwa linear mit der *bcd*$^+$ Gendosis in den Weibchen. Die anteriore Aktivität vermag Kopf- und Thoraxstrukturen auch in heterotopen Eipositionen zu induzieren. Menge und Lokalisation der *bcd* abhängigen Aktivität bestimmen Umfang und Anordnung der anterioren Strukturen, wirken daneben aber auch inhibierend und polarisierend auf abdominale Strukturen. Dabei kann es zu einer völligen Reorganisation der anteroposterioren Polarität im Embryo kommen.
Das Entfernen anterioren Zytoplasmas führt zu *bcd*-Phänokopien in Wildtyp-Eiern. *exu* und *swa* Embryonen reagieren dagegen auf den Verlust anterioren Zytoplasmas nicht mit einer Verstärkung des Phänotyps. Zusammen mit anderen Überlegungen führte dies zu der Vorstellung, daß die *bcd*$^+$ Aktivität in *exu* und *swa* Embryonen ihre ausschließlich anteriore Lokalisation verloren hat, und beide Gene für ihre Fixierung in der anterioren Eispitze benötigt werden.

In Übereinstimmung mit der Annahme, daß die Musterdefekte in *exu* (und mit Einschränkungen in *swa*) durch eine veränderte Verteilung des *bcd*$^+$ Genprodukt ausgelöst werden, verschwindet in der Doppelmutante *exu-bcd* jeder Einfluß von *exu* auf das Muster. Dagegen addieren sich die phänotypischen Defekte von *bcd* und *tsl* in der Doppelmutante *bcd-tsl*. *tsl* scheint Genfunktionen zu eliminieren, die von *bcd* relativ unabhängig sind, und grenzt dadurch die terminalen Regionen als eigenständige, genetisch autonom gesteuerte, Einheit des anteroposterioren Musters ab.

In Transplantationsexperimenten konnte eine posterior lokalisierte Zytoplasmaaktivität gefunden werden, die *tsl*-abgängige Telsonstrukturen in *tsl* induzieren kann. Phänotypische Eigenschaften wie die Duplikation eines Telsons am anterioren Ende von *bcd*

Embryonen sprechen jedoch für eine Konzentrierung *tsl*-abhängiger Faktoren an beiden Ei-Enden.

Teile dieser Arbeit wurden bereits veröffentlicht oder werden bald veröffentlicht:

Frohnhöfer H.G., Lehmann R., Nüßlein-Volhard C. (1986). Manipulating the anteroposterior pattern of the *Drosophila* embryo. J.Embryol.exp.Morph.97 Suppl. 196-179.

Frohnhöfer H.G., Nüßlein-Volhard C. (1986). Organisation of anterior pattern in the *Drosophila* embryo by the maternal gene *bicoid*. Nature 324 120-125.

Frohnhöfer H.G., Nüßlein-Volhard C. [1987]. Maternal genes required for the anterior localization of *bicoid* activity in the embryo of *Drosophila*. (zur Publikation eingereicht).

Inhaltsverzeichnis

	* Abschnitte von geringer Aussagekraft		Seite
	Zusammenfassung		
	Inhaltsverzeichnis		
	Abkürzungen und formalisierte Schreibweisen		
A)	Einleitung	Fig.*1*,2,3,4	1
B)	Mutanten und ihre phänotypische Beschreibung		
	I *bicoid*		
	1. Zytologie	Fig.101	11
	2. Allele und Phänotyp	Fig.102,*103*	11
	2.1. Stark mutante Phänotypen	Fig.*104*,105	12
	- Standard - Eigröße		
	- Variationen - Transformation mit *Ubx*		
	- Allele - Amorpher Phänotyp		
	2.2. Schwache und mittelstarke Phänotypen	Fig.106A&B,107	19
	- Kopfdefekte - Transheterozygote Kombinationen		
	- *111,E4,E3* - *2-13*		
	- *E5* - *085-13*		
	2.3. Temperatursensitive Periode	Fig.108,109	29
	3. Entwicklung		
	3.1. Lebendbeobachtung	Fig.*110,111*	29
	3.2. Expressionsmuster von *ftz*	Fig.112,*113*	33
	3.3. Entwicklung nach der Gastrulation	Fig.*114,115*	35
	II *exuperantia* und *swallow*		
	1. Zytologie	Fig.116,117	39
	2. *exuperantia*		
	2.1. Allele und Phänotyp	Fig.*118,119*	39
	2.2. Temperatursensitive Periode	Fig.120	41
	2.3. Entwicklung		43
	- Lebendbeobachtung	(Fig.*119*)	
	- Expressionsmuster von *ftz*	Fig.*121*,(112)	
	3. *swallow*	Fig.122,*123*	
	3.1. Allele und Phänotyp	*124*,125	45
	3.2. Temperatursensitive Periode	(Fig.120)	47
	3.3. Entwicklung	Fig.(112),121	49
	III *torsolike* und seine Gruppe		
	1. Zytologie (*tsl*)	Fig.126	51
	2. Phänotyp	Fig.127,128	51
	2.1. *torsolike*		
	*2.2. Temperatursensitivität von tsl^{135}	Fig.129	53
	2.3. Andere Gene mit identischem Phänotyp		55

3. Entwicklung
3.1. "Pole hole" Effekt Fig.*130* 55
3.2. Gastrulation, Anlagenplan Fig.*131,132* 57
3.3. Entwicklung nach der Gastrulation Fig.*133* 61
*IV Sonstiges - Vergleichende Darstellung
1. Keimbahnabhängigkeit 63
2. Größe der Thoraxregion in der Kutikula Fig.134 63
3. Kopfdefekte in *bcd, exu, swa* und *tsl* Fig.*135,136* 67

C) Genetische Kombinationen
I Kombinationen zwischen maternalen rezessiven Mutanten
1. *torso*-Gruppe 69
- Untereinander
- *RL3* Fig.*201*
- torso-*bicoid* Fig.*202*
* - torso-*exu/swa* Fig.*203*,204
* - torso-*oskar* Gruppe
2. *bicoid* 75
2.1. *bcd* mit *exu* und *swa* Fig.*205*,206
2.2. *bcd* mit *oskar*-Gruppe Fig.*207*
- *bcd-oskar*
- *bcd-oskar-tsl*
- *bcd-staufen*
3. *exuperantia* und *swallow* 77
3.1. *exu-swa*
3.2. *exu* und *swa* mit *oskar*-Gruppe Fig.208,*208B*
- *stau-exu*
- *exu-osk*
- Übrige
Zusammenfassung C-I 81
*II Kombinationen mit *Bicaudal* 83
1. *Bic-D* und *bcd* Fig.209
2. *Bic-D* und *exu, swa*, stau Fig.210,*211*
3. *Bic-C*
Zusammenfassung C-II
*III Kombinationen mit zygotischen Gap-Mutanten Fig.212,*213*, 214,*215* 87
*IV Kombinationen mit Mutanten des Dorsoventralsystems 89

D) Räumliche, zeitliche und genetische Charakterisierung 93
maternal determinierter Zytoplasmaaktivitäten
I Anteriores Zytoplasma
1. Injektion von Wildtypzytoplasma in *bcd* Fig.*301* 93
1.1. Gen Dosis und Zytoplasmavolumen Fig.302 95
1.2. Altersabhängigkeit Fig.303 95
1.3. Positionsabhängigkeit in Donoren Fig.304 95
1.4. Positionsabhängigkeit in Rezipienten Fig.305 97
- Anteriore Injektion
- Mitte
- Posterior
- Vergleiche Fig.306
*1.5. Nebeneffekte auf das Abdomen Fig.307A&B 103
2. Verteilung der *bcd* Aktivität Fig.308A&B 105
3. Donoren unterschiedlichen Genotyps Fig.309 107
4. Entfernen von Zytoplasma
4.1. Reaktion von Wildtyp und *bicoid* Fig.310 107
4.2. Reaktion anderer Genotypen Fig.311rechts 109
II Posteriores Zytoplasma Fig.*313*
1. Heterotope Transplantation von Polplasma in *bicoid* Embryonen 111 Fig.312
2. Nichterminales posteriores Zytoplasma Fig.314 115
*3. Donoren unterschiedlichen Genotyps Fig.315 117
*4. Rezipienten unterschiedlichen Genotyps Fig.(311),316 119
III *bcd-osk* und andere Genotypen als Rezipienten Fig.*319*
1. *osk-bcd* (I) Fig.317A,B,C 121
*2. *osk-bcd* (II) Fig.318 121
3. *osk-bcd-tsl* 125
4. *Bicaudal-D* 127
*5. Wildtyp und *oskar* 129
IV Injektionen in *torso* und *torso-like* Fig.320 131

E) Diskussion
1. *bcd* - anteriore Aktivität Fig.401 135
2. *bcd* - molekulare Ergebnisse 136
3. *osk* - abdominale Aktivität Fig.402 137
4. *exu* 140
5. Unterschiede zwischen *exu* and *swa* 141
6. *bcd* - Verteilung und Variation des Phänotyps 142
7. *tsl* - terminale Regionen 143
8. *tsl* - und andere Gene der *torso*-Gruppe 145

9. *tsl* - Injektionen 146
10. Zygotische Segmentierungsgene Fig.403,404 148
11. Abdominale Faktoren 152
12. Dorsoventralachse 154
13. Vergleich mit anderen Insekten 154

F) Material und Methoden
I Mutanten und Stämme 157
1. Wildtyp, Marker, Balancer
2. Maternale Mutanten
3. Zygotische Mutanten mit embryonalem Phänotyp
4. Chromosomale Aberrationen
5. Rekombinanten
6. Stämme mit Mutationen auf verschiedenen Chromosomen zur Herstellung von Doppelmutanten
II Umgang mit Fliegen 160
III Untersuchung der Morphologie 160
1. Lebendbeobachtung
2. Kutikula Präparation
3. Fuchsinfärbung
4. Histologie
5. β-Galaktosidase Färbung
IV Transplantationen 161
1. Polzelltransplantationen
2. Zytoplasmatransplantationen
V Temperatur-Shift Experimente 161

G) Literaturliste

Abkürzungen, formalisierte Schreibweisen

1. Phänotypenbeschreibung

Der Phänotyp von Embryonen wird mithilfe einer Formel beschrieben. Die Grundbausteine einer solchen Formel sind Abkürzungen für folgende Strukturen:

Tel	Telson
tel	unvollständiges Telson (zumindest Filzkörper nicht gestreckt)
Tel!	In Tabellen wird aus Platzmangel das Telson nicht immer mit angegeben
H	Kopf
H5...H1	Kopfstrukturen unvollständig; unterschieden nach 5 Stufen der Reduktion des Kopfskeletts (beschrieben in B-I-2.3.)
h	Kopfstrukturen unvollständig, Sammelbezeichnung für H5...H1
h1-h4	Maxillare Strukturen etwa wie H1-H4, doch Cephaloalopharyngealskelett stärker reduziert
T1...T3	Thoraxsegmente 1 bis 3 (Dentikelbänder)
A1...A8	Abdominalsegmente A1 bis A8 (Dentikelbänder)

Meist wird eine verkürzte Schreibweise angewandt, die nur die Zahl von Thorax- oder Abdominalsegmenten angibt:
z.B. T1-T2-T3 = 3T

Weitere Modifikationen:

- Zahl der Segmente variiert in der Mutante: 5,6,7A = (5-7)A
- Ventrale Dentikel bedecken großes Feld: AF bzw. TF
- Weniger Dentikel als normales Segment: Af,Tf oder (A),(T1)
- Pfeile zeigen eine Polaritätsumkehr an: $\overrightarrow{A}$-$\overleftarrow{A}$, $\overrightarrow{T}$-$\overleftarrow{T}$
- Polarität nicht eindeutig: $\widetilde{A}$

Elemente, welche verschiedenen Tagmata angehören (oft auch solche die in einer Region gestörter Segmentierung liegen), werden durch Bindestriche verbunden. Die Formel für einen Wildtyp-Embryo lautet dementsprechend:
H6-T1 T2 T3-A1A2A3A4A5A6A7A8-Tel oder H-3$\overrightarrow{T}$-8$\overrightarrow{A}$-Tel

2. Transplantationsexperimente

Abgesehen vom transplantierten Zytoplasmavolumen, sind Alter, Genotyp und Transfer-Position in Donor und Rezipient die wichtigsten Parameter, um ein Transplantationsexperiment zu beschreiben. Die Formel hat folgende Form:

Tpl: Genotyp^{Donor} (Position,Alter)-->Genotyp^{Rezipient} (Position,Alter)

Alternativen in den Parametern sind durch Punkte voneinander abgetrennt.

3. Allgemein verwendete Abkürzungen

Ohne weitere Erklärungen werden außerdem folgende nicht-standardisierten Abkürzungen verwendet:

bcd^{w}	*w*: schwaches Allel einer Mutante
bcd^{s}	*s*: starkes Allel einer Mutante
EL	Eilänge (Konvention: 0% EL ist das Hinterende)
pers.Mittlg.	persönlich Mitteilung
PS	Parasegment
S	S1-S17: Altersstadien des Embryos
S4a,b,c,d	Unterteilung der Altersstadien, siehe Fig.3
UF	unbefruchtet(e) (Eier)
vDB	ventrales (segmentales) Dentikelband
	vDB^{A}, vDB^{T2} Spezifizierung seiner Segmentqualität

4. Alphabetisches Verzeichnis der Abkürzungen

a	anterior
A	Abdominalsegment
AF	großes Feld abdominaler Zähnchen

Af	kleines Feld abdominaler Zähnchen
AMG	Vorderer Mitteldarm
ant.	Entnahme von anteriorem Zytoplasma (100-85% EL)
ap	Analplatten
antso	antennales Sinnesorgan
AS	Amnioserosa
b	Bart (Zähnchenfeld in T1)
bd	black dot (Sinnesorgan in T1,T2,T3)
BF	befruchtet
cir	Cirri
cs	Cephalopharyngealskelett
DA	Dorsalarm
DB	Dorsale Brücke
dHF	dorsales Haarfeld
D/R	Verhältnis von Donoren zu Rezipienten
EL	Eilänge
Fig.	Tabelle, Diagramm, Abbildung
fk	Filzkörper
(H	H-Stück, Fig.4 & 135)
H	Kopf
h	reduzierter Kopf
h	Stunde(n)
kei	Keilin's Organ (Sinnesorgane in T1,T2,T3)
Li	Labialsegment
li	labiale Strukturen
LG	Lateralgräte
lr	labrales Sklerit
m	mitte (50% EL)
Md	Mandibelsegment
mes	Mesoderm
mh	Mundhaken
mso	Maxillares Sinnesorgan
Mx	Maxillensegment
n	Anzahl untersuchter Tiere
oes	Oesophagus
p	posterior
PMG	Hinterer Mitteldarm
Ppl	Posteriores Polplasma
ppw	Posteriore Pharynxwand
Prokt	Proktodäum
PS	Parasegment
PZ	Polzellen
S	Stadium
sp	Spirakeldornen
Stom	Stomodäum
T	Thoraxsegment
T	Temperatur
Tel	Telson
tel	Telson (reduziert)
TF	großes Feld von Thoraxzähnchen
Tf	kleines Feld von Thoraxzähnchen
Tft	Tuft
Tpl	Transplantation
U	Inversion von Abdominalsegmenten
UF	unbefruchtet
VA	Ventralarm
vDB	ventrales Zähnchenband
VP	Vertikalplatte
WT	Wildtyp
ZNS	Zentrales Nervensystem

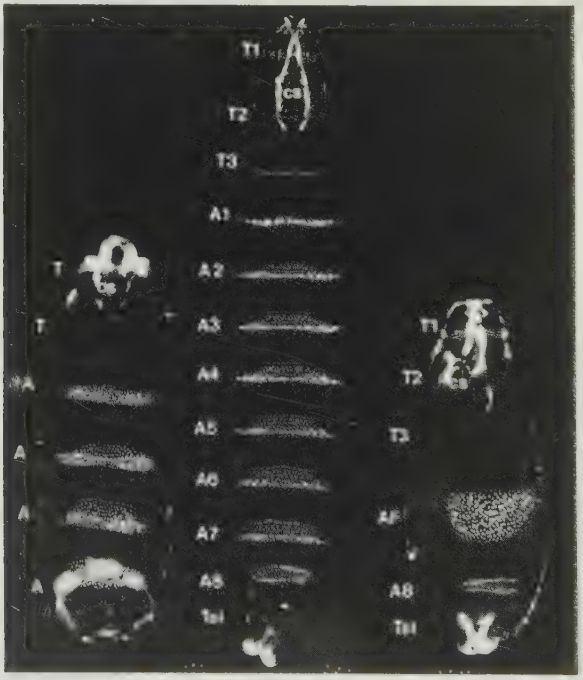
A) EINLEITUNG

Die Entwicklung von *Drosophila melanogaster* vom frisch abgelegten Ei bis zur adulten Fliege dauert etwa 2 Wochen. Bereits nach einem Tag Embryonalentwicklung jedoch hat sich das erste Larvenstadium herausgebildet, das die wesentlichen morphologischen Bauteile des Insektenkörpers, insbesondere dessen Gliederung in ein metameres Muster von Segmenten zum Ausdruck bringt (Fig.1-mitte). Diese Arbeit soll dazu beitragen, das Zusammenwirken von Genen, welche für die Entwicklung dieses metameren Musters verantwortlich sind, aufzuklären. Vorraussetzung dafür war die systematische Suche nach zygotischen (Nüßlein-Volhard et al.84, Jürgens et al.84, Wieschaus et al.84) und maternalen (siehe unten) embryonalletalen Mutanten.

Embryonalletale zygotische Mutanten zeigen durchweg eine späte Letalphase, und nur wenige (≈2% des Genoms) führen zu deutlichen phänotypischen Veränderungen in den Embryonen. Das bedeutet, daß die meisten physiologischen Funktionen im Embryo zunächst mit maternal exprimierten Genprodukten unterhalten werden können, daß aber embryonalspezifische Gene, deren Mutanten das morphologische Muster verändern, relativ leicht zu identifizieren sind. Etwa 21 Gene, deren Mutanten das Segmentierungsmuster stören, sind gefunden worden. Ihren Phänotypen nach können sie distinkten Klassen zugeordnet werden. Das daraus entstehende Klassifikationsschema spiegelt eine fortschreitende Unterteilung der embryonalen Anlage (Ektoderm) in immer kleinere Einheiten wieder. In Mutanten der Gap Klasse (z.B. *hunchback (hb), Krüppel (Kr), knirps (kni)*, Nüßlein-Volhard und Wieschaus 80, Wieschaus et al. 84b, Lehmann und Nüßlein-Volhard 87) fehlen zusammenhängende Blöcke von mehreren Segmenten (Fig.1-rechts). Paarregel Mutanten (z.B.*fushi tarazu (ftz), paired (prd)*, Nüßlein-Volhard und Wieschaus 80, Nüßlein-Volhard et al.85) eliminieren in einem Doppelsegment-Raster homologe Bereiche des Epidermismusters, so daß sich ein repetitives Muster von Defekten über die gesamte segmentierte Region erstreckt. Die Größe eines Einzel-Defekts beträgt etwa eine Segmentlänge, so daß im Durchschnitt jedes 2. Segment eliminiert wird (Fig.1-links). Die Defekte liegen jedoch nicht in Phase mit dem Segmentmuster, und die Mutanten verschiedener ¯aarregel-Gene sind durch unterschiedliche Phasenlagen charakterisiert. In einer dritten Klasse, den Segmentpolaritäts-Mutanten

Fig.1 Kutikulapräparate von Wildtyp, *paired* und *knirps*; Ventralansicht, Kopf oben.

Fig.1-mitte Wildtyp; schlüpffertiger Embryo, bzw. 1.Larvenstadium. Das Tier besitzt 3 Thoraxsegemente (T1-T3, schwache Zähnchen) und 8 Abdominalsegmente (A1-A8, kräftige Zähnchen). Die Kopfstrukturen (cs) sind ins Innere des Embryos eingezogen. Hinter dem achten Abdominalsegment liegt die Telsonregion (Tel).
Fig.1-links ***paired;*** Beispiel einer Paarregel Mutante. Periodisch sich wiederholende Defekte eliminieren jedes zweite ventrale Dentikelband.
Fig.1-rechts ***knirps;*** Beispiel einer Gap Mutante. Eine ausgedehnte Region ist betroffen: Vom 1.-7.Abdominalsegment bleibt (ventral) nur mehr ein großes unsegmentiertes Feld von Dentikeln übrig (AF).
(Photographie von C.Nüßlein-Volhard)



sind die Defektregionen kleiner als ein Segment; sie wiederholen sich dafür um so häufiger - in einem repetitiven Muster von einer Segmentlänge.

Die räumliche Verteilung der Transkriptionsaktivität vieler Segmentierungsgene ist durch In-Situ-Hybridisierungen von klonierten Proben studiert worden. Die zygotische Transkription im Embryo beginnt in den Interphasen der letzten Furchungsteilungen (Stadium 4, Fig.3); zugleich startet auch die Expression der Segmentierungsgene. Alle bisher untersuchten Segmentierungsgene zeigen ein regionsspezifisches Expressionsmuster, das in Periodizität und Position mit den Ausfallregionen der entsprechenden Mutanten korrelliert, wenn auch oft keine vollständige Übereinstimmung besteht. Auch ändert sich das Transkriptionsmuster mit der Zeit. Bis zur Gastrulation (Stadium 6) sind die Expressionsmuster der Paarregel-Gene soweit differenziert, daß sie die Doppelsegmentperiodizität des mutanten Defektmusters zum Ausdruck bringen. Das Paarregel Gen *fushi tarazu (ftz)* etwa wird in 7 äquidistanten Streifen in einem parasegmentalen Raster exprimiert (Fig.2, Hafen et al.84). Wegen der gegenseitigen Rasterverschiebungen in den verschiedenen Paarregel-Genen ist damit die anteroposteriore Achse des Embryos in (para-)segmentale Einheiten (bzw. Untereinheiten) zerlegt (mit Ausnahme der terminalen Regionen). Der Anlagenplan des Tieres (Fig.4) erscheint damit weitgehend festgelegt, wenn die (somatischen) Zellen in der Gastrulation anfangen sich in ihrem Verhalten voneinander zu unterscheidenden (Fig.3).

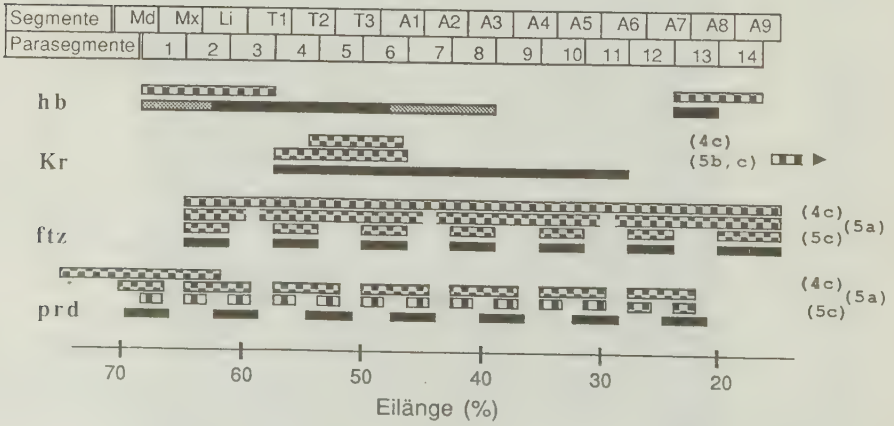
Über die repetitive Unterteilung in metamere Einheiten hinaus wird auch deren Qualität bis zur Gastrulation spezifiziert, was sich an der Expression homöotischer Gene ablesen läßt (Levine et al.83, Akam und Martinez-Arias 85). Diese qualitative Determination läßt sich - allerdings mit geringerer räumlicher Auflösung - auch direkt in Transplantationsexperimenten nachweisen (Chan und Gehring 71, Simcox und Sang 83, Kaufman 80).

Die temperatursensitive Perioden der Segmentpolaritäts-Gene liegen - soweit bekannt - erst nach der Gastrulation (4h-9h, Nüßlein-Volhard pers.Mittlg.). Auch andere Untersuchungen (Beeinflussung der *engrailed* Expression, Perrimon und Mahowald 87; somatische Klone, Wieschaus und Riggleman 87) verweisen auf eine relativ späte Funktion. Vermutlich werden die Segmentpolaritätsgene zur Herstellung des Muster innerhalb jedes einzelnen Segments benötigt.

Fig.2 Expression von Segmentierungsgenen

Die transkriptionsaktiven Zonen von Paarregelgenen formen entlang der Längsachse regelmäßige Serien von Streifen, die Zonen von Gap Genen größere zusammenhängende Blöcke. Die Gap Gene *hunchback (hb)* und *Krüppel (Kr)* werden außerhalb ihrer anterioren Hauptexpressionsbereichen noch in kleineren posterioren Zonen transkribiert (Knipple et al.85, Jäckle et al.86). In lateraler Projektion stehen die Grenzen dieser Zonen etwa senkrecht zum ventralen Rand des Eies, also nicht genau senkrecht auf der Längsachse.
Die Bestimmung der Position der Expressionszonen erfolgt nach drei Bezugssystemen: (1.) Position im Ei; (2.) Lage zu Expressionszonen anderer Gene; (3.) relative Phase zu den morphologischen Segmentgrenzen des Embryos. Die erste morphologische metamere Gliederung in der Epidermis (Stadium 11, Fig.3) ist im Vergleich zur endgültigen definitiven Segmentierung (Stadium 12,13) um etwa ein halbes Segment verschoben (Parasegmente PS, Martinez-Arias und Lawrence 85, Ingham et al.85a). Das Paarregel-Gen *fushi tarazu (ftz)* wird in jedem zweiten Parasegment exprimiert (PS2-PS14)(Hafen et al.84, Weir und Kornberg 85, Hiromi et al.85). Die übrigen Paarregel Gene (z.B. *paired (prd)*, Kilchherr et al.86) realisieren verschiedene andere Raster (Nüßlein-Volhard et al.85). Da jede Segmentanlage im Blastoderm etwa 3-4 Zellen breit ist (in anteroposteriorer Richtung), werden pro Doppelsegment möglicherweise 6-8 unterschiedliche Determinationszustände durch unterschiedliche Kombinationen transkriptionsaktiver Paarregelgene festgelegt.

Schwarze Balken: Eliminierter Bereich im Kutikulamuster
Gemusterte Balken: Transkriptionsaktive Zone
(4c)-(5c): Transkription in verschiedenen Altersstadien



Im frisch abgelegten Ei (≈ Beendigung der Meiose) sind die Achsen des zukünftigen Embryos bereits festgelegt. Mindestens bis zum Einsetzen zygotischer Transkription - etwa 2h später - kann die Fixierung und Differenzierung der axialen Organisation nur unter der Kontrolle maternaler Gene stehen. In Mutageneseexperimenten für maternale Mutanten (Rice und Garen 75, Gans et al.75, Mohler 77, Schüpbach und Wieschaus 86, Nüßlein-Volhard et al. unveröffentlicht) wurden eine Reihe von Phänotypen und Mutantenklassen, in denen Segmentierung und anteroposteriores Muster gestört ist, identifiziert. In maternalen Segmentierungsmutanten sind die Anlagen des verbleibenden Restmusters häufig gestreckt, zusammengezogen, verschoben, der Anlagenplan des gesamten Eies wird also verändert. Die Funktion maternaler Segmentierungsmutanten besteht daher vermutlich darin, die räumlich differenzierte Genexpression zygotischer Segmentierungsgene zu steuern und damit die Einteilung des Eies in verschiedene Anlagebereiche festzulegen. Mehrere alternative Funktionsweisen sind vorstellbar. Entweder wird die Verteilung maternaler Genprodukte durch Prälokalisation während der Oogenese vorgegeben, oder durch Wechselwirkung verschiedener Genprodukte erst später ausdifferenziert (und nur in ihrer Orientierung beeinflußt durch geringfügige, vorgegebene Asymmetrien); entweder sind verschiedene maternale Genprodukte diskret über bestimmte Eibereiche verteilt (vergleichbar den zygotischen Genen), oder räumliche Verschiedenheit drückt sich in einer graduierten Verteilung maternaler Komponenten aus.
Meinhardt (77) nimmt als Modell an, daß maternale Faktoren einen Gradienten bilden, der ausgehend von einem Maximum am posterioren Ende, über das ganze Ei hinwegzieht. Abhängig von der Konzentrations-Verteilung des Gradienten sollen die Transkriptionsbereiche der verschiedener Gap-Gene entlang der Eiachse angelegt werden. Jeweils zwei Gap Gene könnten durch Kooperation die Expression eines Paarregelgens im Bereich ihrer gemeinsamen Grenze induzieren und auf diesem Weg ein festes Raster für das System der Paarregel-Gene etablieren (Meinhardt 86). Durch ein geeignetes System von positiven und negativen Wechselwirkungen wird so eine weitere Unterteilung des Anlageplans wenigstens im Prinzip verständlich.

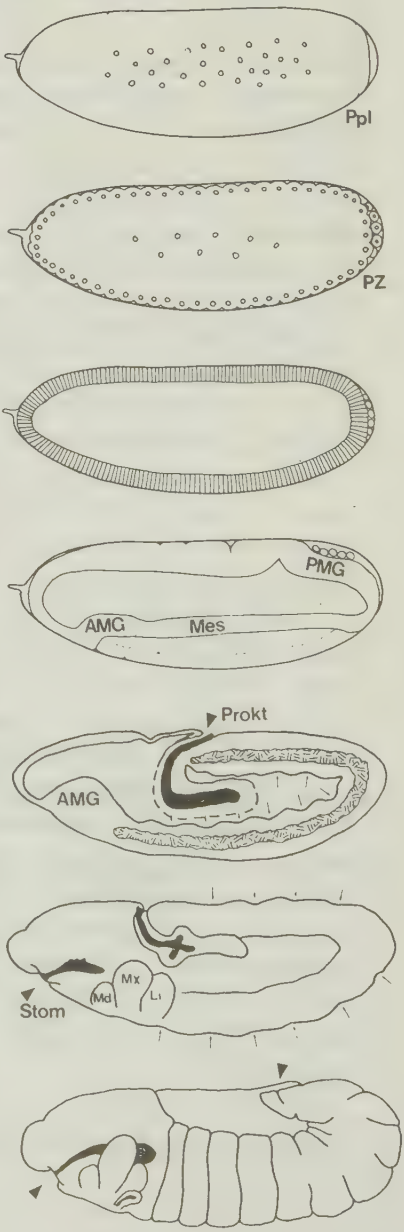
oskar (osk) ist das bislang funktionell am besten charakterisier-

Fig.3 Wildtypentwicklung

An frisch abgelegten Eiern lassen sich die künftigen Achsen des Embryos an der Eiform, den Chorionanhängen und der Mikropyle erkennen. Im Ei-Innern ist an den Polen und in der Peripherie das Zytoplasma gegenüber dem Dotter angereichert; diese Verteilung zeigt während der Furchung charakteristische Veränderungen. Als diskrete, entwicklungsphysiologisch bedeutsame morphologische Spezialisierung wurde jedoch nur das Polplasma am posterioren Ende identifiziert. Im Normalfall werden die Eier im Muttertier befruchtet und dann abgelegt (Alter 0h). Abbildungen nach Nüßlein-Volhard und Campos-Ortega & Hartenstein 85.

Stadium (Alter/h bei 25°)	Wesentliche Vorgänge
S1 & S2 0-1:30	- Beendigung der Meiose - 8 intravitelline synchrone Mitosen; die Zellkerne verteilen sich zunächst über ein ellipsoides Feld im Dotter und beginnen dann an die Peripherie zu wandern.
S3 & S4 1:30-2:10	- Die Kerne - außer den Vitellophagen- haben alle die Zelloberfläche erreicht. - Determinierung der Polzellen (PZ)(Keimbahn). - Die übrigen Kerne bilden eine homogene Schicht. - 5 metasynchrone perivitelline Mitosen (S3,S4a, b,c,d); Ende der Furchung (≈5000 Kerne).
S5 2:10-2:50	- Der dünne Periplasmasaum verstärkt sich über den ganzen Zeitraum S3-S5. - Zellularisierung, zwischen den Zellkernen wachsen von außen Zellmembranen ein. Erst in S6 werden die Zellkerne vollständig gegen den zentralen Dotter abgeschnürt. Kernelongation. - S5a,b,c: Fortschreitende Zellularisierung.
S6 2:50-3:00	- Gastrulation, nach innen verlagert werden Vorderer Mitteldarm (AMG), Mesoderm, Proktodäum & Hinterer Mitteldarm (PMG) mit den Polzellen. - In der Region der prospektiven Kiefersegmente bildet sich die Kopffalte.
S7 & S8 3:00-3:40	Ausstreckung des Keimstreifs; das Hinterende wird auf der dorsalen Seite nach vorne geschoben.
S9 & S10 3:40-5:20	- Segmentale Segregation der Neuroblasten, sichtbar als Beulen im Mesoderm. Dreischichtiger Keimstreif: Epidermis-Neuroblasten-Mesoderm - Invagination des Stomodäums (Stom) in S10.
S11 5:20-7:20	- Transiente Epidermisfurchen zeigen eine parasegmentale Gliederung in Thorax und Abdomen an. - Segmentale tracheale Plakoden - Abgrenzung des Clypeolabrums und Abschnürung labialer, mandibularer und maxillarer Lappen (Extremitäten ?) im Kopfbereich (Li, Md, Mx).
S12 & 13 7-10h	- Rückziehung des Keimstreifs - Entwicklung der definitiven Segmentierung
S14 & 15 10-13h	- Kopfinvolution: Die Anlagen der Kopfregion werden nach Innen verlagert.
S16 & 17	Abschluß der Organogenese

Das Tier schlüpft etwa 24h nach Eiablage (1. Larvenstadium).



REFERENZEN: Zalokar u. Erk 76, Foe u. Alberts 83, Campos-Ortega u. Hartenstein 85.

te maternale Segmentierungsgen. In ausdifferenzierten mutanten *oskar* Embryonen fehlen die abdominalen Segmente A1-A8; die Telsonregion ist jedoch noch vorhanden (Lehmann 85). Außerdem fehlt in mutanten *oskar* Eiern das Polplasma, eine Zytoplasmakonglomeration mit Protein-RNA Komplexen am Hinterpol frisch abgelegter Eier (Mahowald 62, Illmensee et al.76). Das Polplasma ist die einzige licht- und elektronenmikroskopisch erkennbare Spezialisierung im Ei, die für die räumliche Differenzierung des Embryos eine funktionelle Bedeutung hat. Das Polplasma wirkt als lokalisierte Determinante für die Differenzierung der Keimbahnzellen (Polzellen)(Illmensee und Mahowald 74), die sich während der Furchung am Hinterpol bilden und dabei das Polplasma ín sich aufnehmen (Fig.3). Dementsprechend entwickeln sich in *osk* keine Polzellen. Durch Transplantation von Polplasma aus Wildtyp in *osk* Embryonen werden dort Polzellen induziert. Darüberhinaus wird jedoch auch die Kapazität ein Abdomen auszubilden, in den mutanten Embryonen wieder hergestellt (Lehmann 85, Lehmann und Nüßlein-Volhard 86):

osk^{+} ---> Zytoplasma-Aktivität im Polplasma ----> Polzellbildung ----> abdominale Segmentierung

In *osk* Embryonen ist die Position der Anlagen des erhaltenen Restmusters kaum verändert (Ca[illegible]oll et al.86), und insofern gleicht *osk* in seinem phänotypischen Charakter den zygotischen Gap Mutanten. *oskar* ist Vertreter einer Gruppe von maternalen Genen ("*oskar*"-Gruppe), die einander in ihren phänotypischen Eigenschaften sehr ähnlich sind (Schüpbach und Wieschaus 86, Boswell und Mahowald 85, Lehmann 85, Lehmann pers.Mittlg., siehe auch Teil C und D dieser Arbeit).

Diese Arbeit beschäftigt sich mit maternalen Segmentierungsgenen, in deren Mutanten die Eliminierung bestimmter Teile des anteroposterioren Musters mit auffälligen Anlageplanveränderungen im Restbereich einhergeht. Zunächst werden die Musterdefekte und Anlagenplanveränderungen untersucht (Teil B), dann die Wechselwirkung mit anderen Genen in Doppelmutanten beschrieben (Teil C). Im letzten Abschnitt wird versucht, in Transplantationsversuchen lokalisierte Zytoplasmaaktivitäten aufzuspüren (Teil D). Die Ergebnisse stützen folgende Vorstellungen über das Zusammenwirken maternaler Gene bei der Herstellung des anteroposterioren

Fig.4 Anlagenplan

Vom Ende der Furchungsteilungen bis zur Gastrulation stellt sich der Embryo als homogene Schicht von Zellkernen dar (Blastoderm), auf die sich ein Anlageplan projizieren läßt. Anlagenpläne wurden erstellt durch mechanisches Entfernen von Zellen (Underwood et al.80), Laserablation (Lohs-Schardin et al. 79, Jürgens et al.86, Jürgens 87), Meerrettich-Peroxidase Markierung (Technau und Campos-Ortega 85) und histologischer Inspektion (z.B. Hartenstein und Campos-Ortega 85).

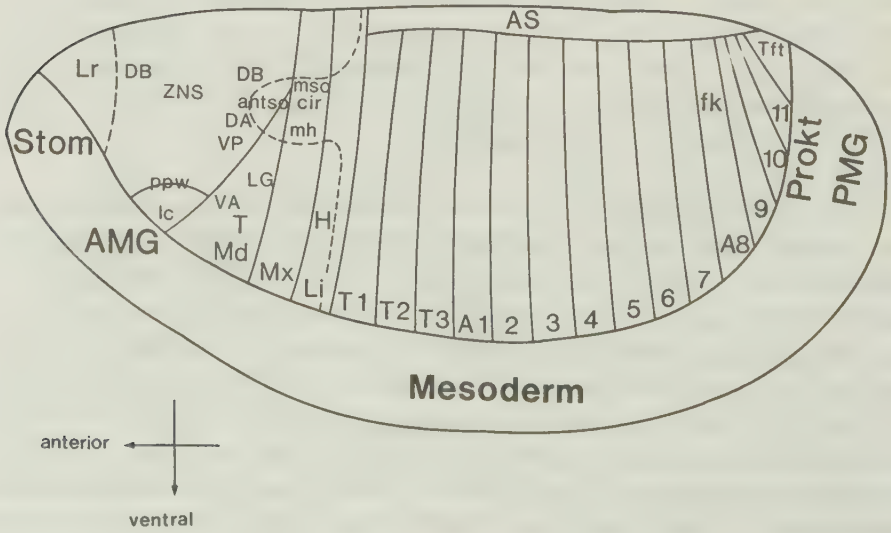
Kopfinvolution: Die Anlagen anterior zur gestrichelten Linie im Anlagenplan werden im Laufe der Entwicklung ins Innere des Embryos verlagert. Die Kiefersegmente bilden dort die ventrale Begrenzung von Mundhöhle und Pharynx, die anterodorsale Region zwischen Antenne und Labrum ("Akron") das Dach des Verdauungskanals. Große Skleritplatten, die die Pharynxmuskulatur aufspannen, verwachsen zum Cephalopharyngealskelett. Die Region um antso und mso (anteriorer Lappen) verbleibt an der Außenseite des Embryos und überdacht im ausdifferenzierten Embryo die Öffnung der Mundhöhle (Jürgens et al.86).

Telson: Die Region hinter dem A8 (einschließlich dorsaler Teile von A8) erscheint im differenzierten Embryo als nicht segmentiert und wird in dieser Arbeit als Telson bezeichnet.

AMG	Vorderer Mitteldarm		Labrum:	lr	Labrales Sklerit
PMG	Hinterer Mitteldarm		Antennensegm.:	antso	Antennales Sinnesorgan
Stom	Stomodäum	Ic	Interkalarsegm.:	ppw	Posteriore Phanrynxwand
Prokt	Proktodäum	Md	Mandibelsegment:	T	T-Rippen
		Mx	Maxillarsegment:	mh	Mundhaken
fk	Filzkörper			mso	Maxillares Sinnesorgan
AP	Analplatten			cir	Cirri
Tft	Tuft	Li	Labialsegment:	H	H-Stück (Querstück)

AS	Amnioserosa
ZNS	Gehirn

Teile des Cephalopharyngealskeletts:
DB Dorsale Brücke DA Dorsalarm LG Lateralgräte
VA Ventralarm VP Vertikale Platte



Musters:

1.) Auf der Ebene der maternalen Gene scheint das anteroposteriore Muster aus drei Teilen aufgebaut. Neben der *oskar*-abhängigen Abdominalregion gibt es eine anteriore Einheit, bestehend aus Thorax und Kopf, die von dem Gen *bicoid (bcd)* abhängt. Für die Entwicklung der terminalen Regionen (Labrum und Telson) wird eine dritte Gruppe von Genen benötigt (z.B. *torso, torsolike*).

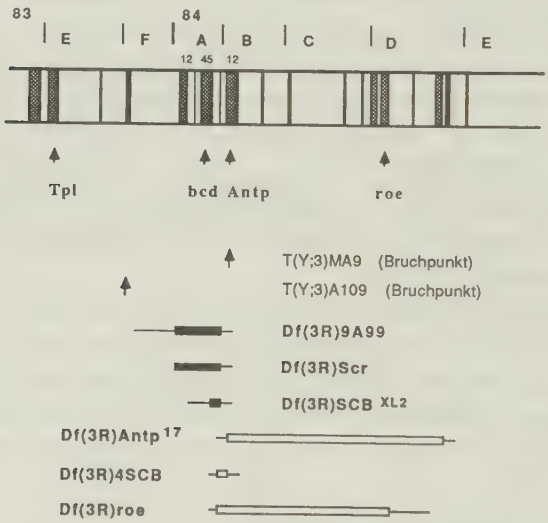
2.) Analog zu *oskar*, läßt sich die Funktionsweise von *bicoid* auf anterior lokalisierte zytoplasmatische Faktoren zurückführen, die in Transplantationsexperimenten anteriore Strukturen induzieren können. Darüberhinaus üben anteriore Faktoren eine supprimierende Wirkung auf die Entwicklung des Abdomens aus.

3.) Andere maternale Genfunktionen lassen sich danach klassifizieren, welches der drei Systeme sie beeinflussen, *oskar*-abhängige Funktionen, *bicoid*, oder *torso*-abhängige Funktionen. Die beiden Gene *swallow (swa)* und und *exuperantia (exu)* sind für die Lokalisierung der *bicoid*-abhängigen anterioren Faktoren verantwortlich.

4.) Alle Experimente sind vereinbar mit der Annahme, daß, ausgehend von einem *osk*-abhängigem posteriorem Zentrum und einem *bcd*-abhängigem anteriorem Zentrum, ein System von zwei entgegengesetzt orientierten Gradienten ausgebildet wird, das die Einteilung der segmentierten Region im Embryo steuert.

Fig.101 Chromosomale Aberrationen in der *bcd*-Region

Vor allem dank der genetischen Arbeiten an den Genen *Antp*, *Scr* und *Dfd* mit ihren z.T. dominanten und revertierbaren Mutationen, stehen eine ganze Reihe von Defizienzen für die Region 84A,B zur Verfügung. Der Chromosomenabschnitt beherbergt eine ungewöhnlich hohe Zahl von Komplementationsgruppen mit entwicklungsbiologisch interessanten Funktionen (Wakimoto et al.84). Die Defizienzen *Df(3R)LIN* und *Df(3R)Antp*^{17} verweisen *bcd* zusammen mit dem ventralisierenden zygotischen Gen *zerknüllt (zen)* in ein zytogenetisches Intervall. Nach molekularbiologischen Daten liegt *bcd* distal (rechts) von *zen* (Berleth pers.Mittlg.). Die zytologische Kartierung der Defizienzen (siehe unten) legen *bcd* in das Intervall 84A4-6. Die kleinste bekannte Defizienz für *bcd*, *Df(3R)LIN*, zeigte zytologisch keine Defekte.
Balken: Deletierte Region
Linien: Unsicherheit in der Bestimmung der Bruchpunkte



Komplementation

Defizienzen		pb	zen	bcd	Dfd	Scr	ftz	Antp	roe	Referenz
Df(3R)Scr	84A1; 84 B1,2	m	m	m	m	m	m	m	+	(L,J)
Df(3R)9A99	83F2-84A1; 84 B1,2	m	m	m	m	m	m	+	+	(L,J)
Df(3R)LIN		m	m	m	m	m	+	+	+	(J)
Df(3R)SCX2	84A5; 84 C1,2	m	m	m	m	m	m	m		(L,H)
=Df(3R)SCX^{W+RX2}										
Df(3R)SCB^{XL2}	84A3-4,5; 84 B1,2	+	m	m	m	m	m	m		(J)
Df(3R)Antp^{17}	84B1-2; 84D11-12	+	+	+	m	m	m	m	m	(L,D)
=Df(3R)Antp^{Ns+R17}										
Df(3R)roe	84A6-B1; 84D4-9	+	+	+	+	m	m	m	+	(L,J)

\+ Defizienz komplementiert Punktmutante
m Defizienz komplementiert Punktmutante nicht

L=Lindsley & Zimm 86 J=Jürgens,unveröffentlicht H=Hazelrigg and Kaufman 83
D=Duncan and Kaufman 75

B) MUTANTEN UND IHRE PHÄNOTYPISCHE BESCHREIBUNG

Gegenstand dieser Arbeit ist die Charakterisierung einer Klasse embryonalletaler Mutanten, die sich durch folgende Eigenschaften auszeichnen:

- Rezessiv, voll penetrant.
- Maternal: Die Ausprägung des Phänotyps wird durch den Genotyp der Mutter bestimmt.
- Anteroposteriores Muster gestört: Der Kutikula-Phänotyp ist durch den Ausfall bestimmter Regionen des anteroposterioren Musters gekennzeichnet.
- Anlagenplan geändert: Abweichungen von der Normalentwicklung, die den späteren Kutikulaphänotypen entsprechen, können bereits während der Gastrulation gefunden werden. Das Gastrulationsmuster erscheint entlang der anteroposterioren Achse verzerrt.

In Drosophila sind (abgesehen von *staufen* (Teil C)) acht Gene bekannt, deren Mutanten diesen Kriterien genügen. Die Mutanten der 8 Gene produzieren nur drei verschiedene Phänotypen, so daß jedes der Gene in eine von drei Gruppen mit jeweils einheitlichem Phänotyp fällt: (1.) *bicoid (bcd)*, (2.) *swallow (swa)* und *exuperantia (exu)*, (3.) 5 Gene mit torso Phänotyp.

I BICOID

1. Zytologie

Eine Reihe von Defizienzen proximal am rechten Arm des III. Chromosoms schließen *bcd* ein und verweisen es zusammen mit *zerknüllt (zen)* in ein zytologisches Intervall in 84A (Fig.101). Durch die Kombination von Translokationen konnte eine synthetische Duplikation konstruiert werden:

C(1)RM,y;T(Y;3)MA9^{P} A109^{D}

Sie wird im Folgenden bezeichnet als *Dp bcd^{+}*.

2. Allele und Phänotyp

Schwache *bcd* Allele bewirken Reduktion und Ausfall von Strukturen in der vorderen Kopfregion. Mit ansteigender Allelstärke werden alle Teile des Kopfes und schließlich auch des Thoraxes von der Reduktion betroffen. Parallel zum Verschwinden anteriorer

Fig.102 Allele von *bicoid (bcd)*

Allel (synonym)	Marker (Rekombinanten)	h.v.[1]	Allel-Stärke	anterior wärme-sensitiv	abdominal kälte-sensitiv	Screen[2]
2-13	th st cp in ri p^p	–				
	p^p e	–	*	[/]	[/]	d1
	th st cp in ri	–				
E5	rutipa[3]	++	*	/	#	c
(340-8)	ri roe p^p	+++				
	th st cp in ri p^p	+				
111	th st cp in ri p^p ("L14")	++	*	#	#	d1
	ru st p^p	++				
E4	ru st e ca	++	**	#	#	c
(840-3)	st e	+++				
E3	ru st e ca	++	***	#	#	c
(665-4)	th st e	+				
085(-13)	ru st e ca	+	***(*)	/	?	c
GB	th st cp in ri p^p					
	p^p	++	*****	[/]	/	d1
23-16	th st cp in ri p^p	–				
	th st cp in ri p^p e	–	*****	[/]	/	d3
	th st cp in ri p^p	–				
33-5	th st cp in ri p^p					
	th st cp in ri e	+	*****(*)	[/]	/	d1
E1	rutipa[3]	+				
(143-3)	th st ri roe p^p	+++	*****(*)	[/]	#	c
	th st ri roe p^p e	++				
E2	ru st e ca	+				
(252-19)	ru st e	+	*****(*)	[/]	#	c
	st	+++				
Df(3R)9A99	ru h st cu sr e^s ca	–	[*****(*)]	[/]	[±]	
Df(3R)LIN	th st cp in ri p^p	–	[*****(*)]	[/]	[±]	d3
(Df(3R)Lin2)	st ^{p} e					

[1] h.v.: homozygot lebensfähig, Abschätzung der Vitalität. In bcd^{23-16}, nicht aber in bcd^{2-13}, sind verschiedene Rekombinanten übereinander lebensfähig.
[2] Screen: Mutagenesen, aufgelistet in F-I-2
[3] rutipa = ru (h) th st ri roe p^p e^s ca
\# temperatursensitiv
/ nicht deutlich temperatursensitiv
[..] konnte nicht homozygot getestet werden

In der Allelstärke können wenigstens 5 verschiedene Stufen unterschieden werden (,**,***,...); weniger signifikante Unterschiede sind als Zwischenstufen aufgeführt (z.B. ***(*)). Die starken Allele zeigen homozygot keine Kopf- und Thoraxstrukturen mehr (*****). Das unterschiedliche Temperaturverhalten macht jedoch deutlich, daß sich nicht alle Differenzen entlang einer linearen Skala auftragen lassen (Siehe Fig.106,10 .*

Strukturen werden Elemente der Telsonregion am anterioren Ende des Embryos dupliziert. Zusätzlich treten im Abdomen Segmentierungsstörungen auf. In starken Allelen fehlen Kopf und Thorax vollständig. In erster Näherung erzeugen die 11 bekannten Punktallele von *bcd* ein kontinuierliches Spektrum von Phänotypen mit variabler Reduktion der anterioren Kopf-Thorax Region (Fig.102&103). Eine genauere Betrachtung fördert jedoch allelspezifische Besonderheiten (z.B. Art der Temperaturabhängigkeit, Fig.102) zu Tage, so daß sich nicht alle Allele in eine eindeutige lineare phänotypische Serie einreihen lassen.

2.1. Stark mutante Phänotypen

5 Punktallele erzeugen bei 18°C und 29°C Embryonen ohne Kopf- und Thoraxstrukturen.

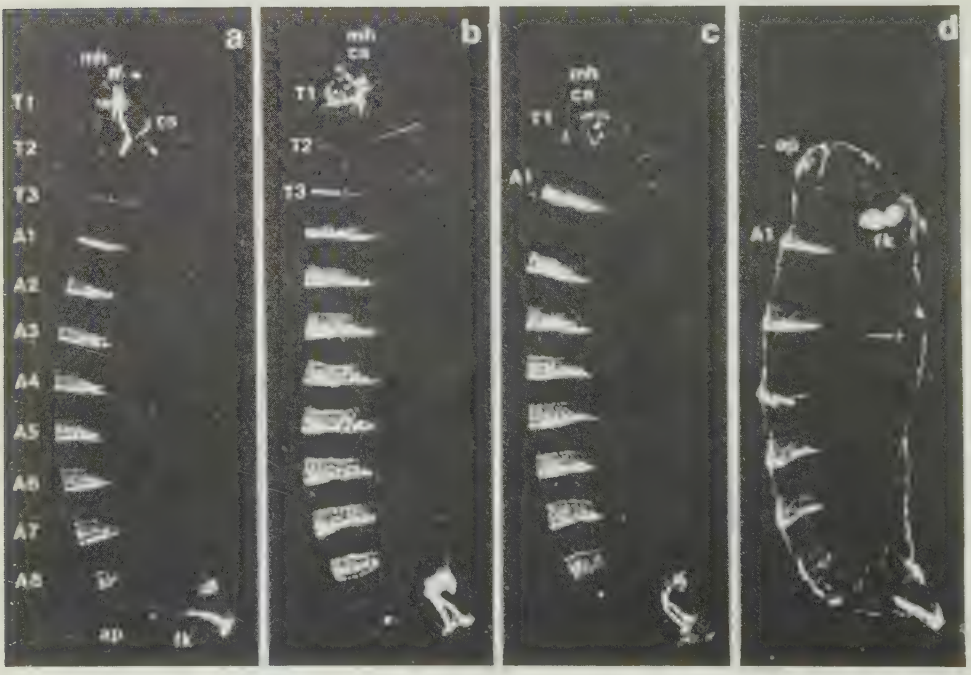
"Standardphänotyp" (Fig.103d): Posteriores Telson und hintere Abdominalsegmente sind im wesentlichen normal ausgeprägt; nur sind die Segmente häufig etwas vergrößert (gedehnt). Davor liegt eine abdominale Region mit gestörter Segmentierung. Ventrale Zähnchenbänder (vDB's) können dort eliminiert sein, partiell eliminiert sein, oder an den Rändern (nicht median) fusionieren, so daß Ringe ventraler Zähnchen entstehen. Vergrößerte Zähnchenfelder und vergrößerte Zonen nackter Kutikula entstehen vermutlich ebenfalls durch Fusion zweier Segmente. Meist bleiben 6 oder 7 abdominale Zähnchenbänder erhalten; am häufigstens fehlen die vDB's von A2 und A4. Das vorderste Zähnchenband zeigt häufig Charakteristika eines A1 (z.B. keine Zähnchenreihen mit invertierter Polarität). Es kann aber gemischte Merkmale aufweisen: Ein vergrößertes (fusioniertes?) Feld zeigt am Vorderrand lateral die Morphologie eines A1 (keine Unterbrechung zwischen lateralen und dorsalen Haaren), weiter posterior aber Zähnchenreihen invertierter Polarität (Kennzeichen für nicht-A1).
Das duplizierte Telson am Vorderende besitzt einen Tuft und die kutikularen Elemente der Segmente A9, A10 und A11 (Analplatten, 3x2 Sinneskegel); von den dorsalen Strukturen des achten Abdominalsegments sind Filzkörper und Spirakeldornen stets vorhanden. Auch wenigstens 2 der 3 lateralen Sinneskegel in A8 sind meist erkennbar. Die Filzkörper sind häufig nicht gestreckt; möglicherweise fehlt Epidermismaterial für die Bildung der Spirakelhörnchen aus der vorderen dorsalen Region von A8 (Jürgens 1987). In

Fig.103 Kutikula Phänotyp von *bcd*, allelische Serie - Übersicht.

a) Wildtyp; die Kopfstrukturen (u.a. mh, cs) sind in das Innere der Larve eingezogen. Die Strukturen hinter dem A8 (u.a. ap,fk) sind zu einem äußerlich unsegmentierten Komplex (Telson) verwachsen.
b) bcd^{E3}/bcd^{E3}, 18°; das Cephalopharyngealskelett ist deutlich reduziert.
c) bcd^{E3}/bcd^{E3}, 25°; der gesamte Thorax ist etwa auf die Länge eines Segments verkleinert, setzt sich jedoch noch aus Anteilen aller drei Thoraxsegmente zusammen, wie auf der dorsalen Seite zu erkennen ist. Daneben bleiben auch noch Reste des Kopfskeletts bestehen.
d) bcd^{E1}/bcd^{E1}, 25°; Thorax- und Kopfstrukturen sind vollkommen verschwunden; am anterioren Ende sind Telsonstrukturen dupliziert.

T1...T3 = Thoraxsegmente 1-3
A1...A8 = Abdominalsegmente 1-8
mh = Mundhaken
cs = Cephalopharyngealskelett
ap = Analplatten
fk = Filzkörper

Für alle Abbildungen gilt: anterior = links oder oben
Bei Profilansicht: ventral = unten oder links



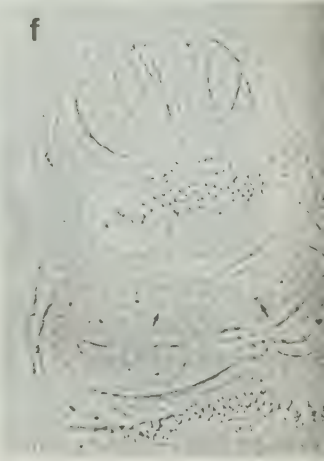
lebenden Embryonen sind duplizierte Malpighische Gefäße zu sehen.

Variationen: Die anterior duplizierte Region kann größer sein, als eben angegeben (Fig.104c,d). Zu den bereits beschriebenen duplizierten Strukturen treten dann das dorsale Fell, das den anterioren dorsalen Teil von A8 markiert, und das Filzkörpermaterial nimmt gestreckte Gestalt an. Dazu können ein dupliziertes vDB^{A8} und gelegentlich ein weiteres vDB (vermutlich A7) treten. Mehr als zwei vDB's sind in der Regel nicht dupliziert.
Bei 18°C kann die Anzahl abdominaler Segmente von etwa 6-7 auf 4-6 verringert sein (Fig.104a,b). Damit einhergehend vergrößern sich die Zähnchenfelder und ihre Abstände voneinander. Übergangsgangszustände zeigen Zähnchenringe als Folge von paarweisem Fusionieren von Segmenten (Zähnchenbändern). Fusionen zwischen den letzten drei Segmenten treten meist nicht auf. Im vorderen Abdomenbereich scheint kein festes Raster zu existieren, in dem Segmente miteinander verschmelzen.

Allele (Fig.105): Innerhalb des eben beschriebenen Rahmens unterscheiden sich die fünf starken Allele phänotypisch. Drei verschiedene Typen lassen sich einander gegenüberstellen: bcd^{E1} und bcd^{E2} zeigen abhängig von der Temperatur relativ starke Schwankungen der abdominalen Segmentzahl; die invertierte Region bleibt klein, und die Filzkörper sind nur selten gestreckt. Bei bcd^{23-16} und bcd^{33-5} sinkt die abdominale Segmentzahl kaum mit der Temperatur ab, und beide Allele weisen eine stärkere Tendenz zur Inversion von abdominalen Segmenten auf. bcd^{33-5} und bcd^{23-16} zeigen im Mittel eine geringere Eilänge als bcd^{E1} und bcd^{E2}, aber in beiden Gruppen ist die Eigröße nicht extrem unnormal. Das Allel bcd^{GB} läßt sich eher der Gruppe bcd^{23-16}, bcd^{33-5} zuordnen, besitzt jedoch eine Reihe von Besonderheiten: Die Eier von bcd^{GB} sind besonders dick (dorsoventraler Durchmesser), und Eiform wie Eigröße unterliegen starken Schwankungen. Besonders die kleinen Eier sind häufig unbefruchtet, oder stoppen früh in der Entwicklung; die Differenzierung in vielen Embryonen ist schlecht (schwache Sklerotisierung, zwischen den Telsons an beiden Enden und der abdominalen Region treten häufig Einschnürungen mit Wundrändern in der Kutikula auf). bcd^{GB} Embryonen zeigen eine besonders starke Tendenz, große duplizierte invertierte Regionen auszubilden; bei geringer Segmentzahl (18°C) führt dies häufig zu

Fig.104 Starke *bcd* Allele, Kutikula Phänotyp

a) bcd^{E1}/bcd^{E1}, 18°; wenige Segmente, keine Abdominalsegmente dupliziert.
b) bcd^{E1}/bcd^{LIN}, 29°; viele Segmente, keine Abdominalsegmente dupliziert.
c) bcd^{GB}/bcd^{GB}, 18°; wenige Segmente, Abdominalsegmente dupliziert.
d) bcd^{GB}/bcd^{GB}, 29°; Abdominalsegmente dupliziert.
e) *DTS91/+*; bcd^{E1}/bcd^{E1}, 29°; häufig gestreckte Filzkörper und oft Umkehr von Abdominalsegmenten in Eiern mit verkürzter Längsachse.
f) Maternal: $bcd^{E1}/bcd^{Df\ LIN}$; zygotisch: Ubx^{79f}/Ubx^{109}; der posteriore Teil des 1. Segments (im Abdomen) ist in thorakale Strukturen transformiert.



symmetrisch bicaudalen Embryonen (Fig.104c).
Auch Kombinationen zwischen starken und mittelstarken Allelen können zu Embryonen ohne Kopf- und Thoraxsegmente führen. Die abdominalen Segmentierungsstörungen sind in diesen Tieren weniger stark ausgeprägt (Fig.105B). Trotz *bcd* Restaktivität treten gelegentlich invertierte abdominale Segmente auf.

Eigröße: Innerhalb eines Geleges von bcd^{E2}/bcd^{E2} wurde gefunden, daß kleine Eier häufiger gestreckte Filzkörper (d.h. eine vergrößerte duplizierte Region) aufweisen als die größeren Eier. Wenn bcd^{E1} mit einer Mutante kombiniert wird, die dominant extrem kurze Eier produziert (*DTS91*), zeigen die abgelegten Embryonen zu fast 100% gestreckte Filzkörper (Fig.104e). Die Länge der Eier kam etwa auf 75% der Werte eines bcd^{E1}/bcd^{E1}-Geleges.

Transformation mit *Ubx*: Die homöotische Mutation Ubx^{79f} transformiert das vDB^{A1} in vDB^{T2} (PS6->PS4), Ubx^{C1} transformiert vDB^{A1} und vDB^{A2} in vDB^{T2} (PS6,PS7->PS4). Durch Transformation nach Thorax läßt sich damit die Identität der anterioren abdominalen Segmente im *bcd* Phänotyp besser bestimmen. In Kombination mit Ubx^{79f} (maternal: bcd^{E1}/bcd^{LIN}; zygotisch: Ubx^{109}/Ubx^{79f}) lassen sich mehrere Typen von Transformationen finden:
- Das erste Zähnchenband besteht vollständig aus thorakalen Zähnchen.
- Das erste Zähnchenband besteht aus einem Mosaik von Feldern mit thorakalen und abdominalen Zähnchen.
- Das erste Zähnchenband besteht aus einem Streifen anteriorer thorakaler und einem Streifen posteriorer abdominaler Zähnchen (hauptsächlich bei 18°C, kurzsegmentige Embryonen).
- Das erste Zähnchenband besteht aus einem anterioren abdominalen und einem posterioren thorakalen Streifen (hauptsächlich bei 29°C, vielsegmentige Embryonen)(Fig.104f).

Die ersten drei Fälle bestätigen die morphologische Interpretation des nichttransformierten Phänotyps: die Qualität A1 ist meist am Vorderende des Embryos vorhanden, oft aber mit anderen Qualitäten fusioniert. Der 4. Fall zeigt eine Umkehr in der Sequenz segmentaler Qualitäten ohne gleichzeitige Umkehr der Segmentpolarität. Weniger als 25% aller Embryonen zeigen überhaupt Transformation; möglicherweise ist in einem Teil der Embryonen die A1 Qualität auf nackte Kutikularegionen beschränkt.

Fig.105 Phänotypische Eigenschaften der starken *bcd* Allele

A) Starke Allele homozygot und in trans zu Defizienzen *(Df 9A99, Df LIN)*

		E1				*E2*				*33-5*				*23-16*				*GB*			
	T	a	fk	U	EL	a	fk	U	EL	a	fk	U	EL	a	fk	U	EL	a	fk	U	EL
9A99	29°	6,8	0	0	–	6,9	22	0	–	6,5	95	16	–	6,6	71	–	–	7,3	26	7	–
	18°	5,2	35	5	–	5,0	90	10	–	5,0	100	21	–	5,0	93	–	–	5,4	33	53	–
LIN	29°	6,3	–	–	–	6,7	17	–	–	6,6	–	–	–					6,3	–	–	–
	18°	5,3	–	–	–	5,5	20	–	–	6,3	–	–	–					5,9	–	–	–
hom¹	29°	6,9	21	0		7,3	9	0		6,2	64	13		7,1	33	0		5,8	73	36	
					534				529				517				487				499
	18°	4,8	15	0		4,7	13	0		6,0	64	12		6,4	60	6		6,1	90	40	
hom²	29°	6,7	11	0	–	6,9	–	–	–	6,1	46	6	–					4,6	–	32	–
	18°	5,0	19	0	–	5,0	–	–	–	6,3	100	66	–					4,7	–	44	–

B) Einige transheterozygote Kombinationen

	E1/33-5				*E1/GB*				*E3/LIN **				*E4/LIN **			
29°	6,8	71	14	–	6,7	70	7	–	7,5	–	13	–	7,7	–	20	–
18°	6,2	0	0	–	5,7	9	0	–	6,8	–	0	–	7,8	–	5	–

a = Anzahl der Abdominalsegmente (Durchschnitt)
fk = % Embryonen mit gestreckten Filzkörpern
U = % Embryonen mit invertierten Abdominalsegmenten
EL = Eilänge/µm (Durchschnitt)
hom¹, hom² = Allel jeder Spalte homozygot; verschiedene Gelege
T = Temperatur
* = bilden teilweise auch anteriore Strukturen (Abschnitt 2.3.)
– = nicht ausgewertet

zu A) Die Allele bcd^{E1} *und* bcd^{E2} *verringern bei niedriger Temperatur deutlich die durchschnittliche abdominale Segmentzahl (a).* Beiden fehlt die ausgeprägte Tendenz von bcd^{33-5}, bcd^{23-16} *und* bcd^{GB}, *zusammen mit dem Telson Elemente von A8 anterior zu duplizieren (Kriterien fk, U). Der Vergleich verschiedener Gelege (hom¹, hom²) zeigt die Reproduzierbarkeit dieser Eigenschaften. In Kombination mit Defizienzen für* bcd (Df 9A99, Df LIN) *wird die Abdomenreduktion in* bcd^{E1} *und* bcd^{E2} *abgeschwächt, die Tendenz zu Umkehr abdominaler Segmente eher verstärkt. Da sich* bcd^{23-16} *in Kombinationen mit mittelstarken Allelen relativ schwach verhält (Abschnitt 2.3.), können die Unterschiede zwischen den beiden Allelgruppen dennoch nicht einfach als Unterschiede in der Allelstärke interpretiert werden. Entweder sind dominante Einflüsse im genetischen Hintergrund für die allelischen Unterschiede verantwortlich (worauf die Unterschiede in der durchschnittlichen Eilänge hinweisen könnten), oder qualitativ verschiedene Teilfunktionen, von* bcd^{+} *sind in den verschiedenen Allelen noch als Restaktivität erhalten.*

zu B) Die Phänotypen von Kombinationen zwischen starken Allelen lassen sich nicht mit Hilfe einfacher Regeln auf die Ergebnisse von (A) zurückführen. Auch in transheterozygoten Kombinationen mit mittelstarken Allelen (bcd^{E4}, bcd^{E3}) *können invertierte abdominale Segmente auftreten. Die invertierte Region ist in diesen Fällen manchmal sogar besonders groß: Tel-3,5Ā-3,5Ā-Tel.*

Bei Transformation mit *Ubx*^{C1} treten nur selten Embryonen mit 2 thorakalen Zähnchenbändern auf, was auf häufige Elimination des A2 verweist. Auch das 2. Abdominalsegment kann von zusammengesetztem Typ sein.
(Schwache Transformationen im hinteren Abdominalbereich, die durch die Verwendung von *Ubx*^{109} bedingt sind, wurden in der Beschreibung ignoriert.)

Amorpher Phänotyp: Die 5 starken *bcd* Allele sind nicht alle gleich stark. In Kombinationen mit schwächeren Allelen (siehe unten) verhalten sich *bcd*^{GB} und (weniger eindeutig) auch *bcd*$^{23-16}$ schwächer als Defizienzen und die anderen Punktallele. *bcd*^{E1}, *bcd*^{E2} und *bcd*$^{33-5}$ sind daher als die stärksten verfügbaren Allele anzusehen. Die bestehenden phänotypischen Unterschiede zwischen ihnen (Fig.105A) können nicht ohne weiteres als Unterschiede in der genetischen Stärke gedeutet werden; sie könnten auf Unterschieden im genetischen Hintergrund beruhen.
In Kombination mit *bcd*$^{2-13}$ (siehe unten) verhalten sich alle Punktallele schwächer als die Defizienzen. Vielleicht sind alle Punktallele nicht wirklich amorph. Denkbar ist aber auch, daß zusammen mit *bcd*$^{2-13}$ ein weiteres Gen, welches von den *bcd*-Defizienzen nicht komplementiert wird, mutiert ist, oder, daß die Expression von *bcd*$^{2-13}$ stark von einer Paarung der Chromosomen in der *bcd*-Region abhängt, welche durch die Defizienzen unterbrochen wird.

2.2. Schwache und mittelstarke Phänotypen

Beschreibung der Kopfreduktion: Die Verkleinerung der Kopfregion läßt sich am besten an der Reduktion des Cephalopharyngealskeletts ablesen. Um verschiedene Phänotypen vergleichen zu können, habe ich folgende deskriptive Stufen H1-6 eingeführt (Abbildungen siehe Fig.135):

H6: Der Kopf ist normal.

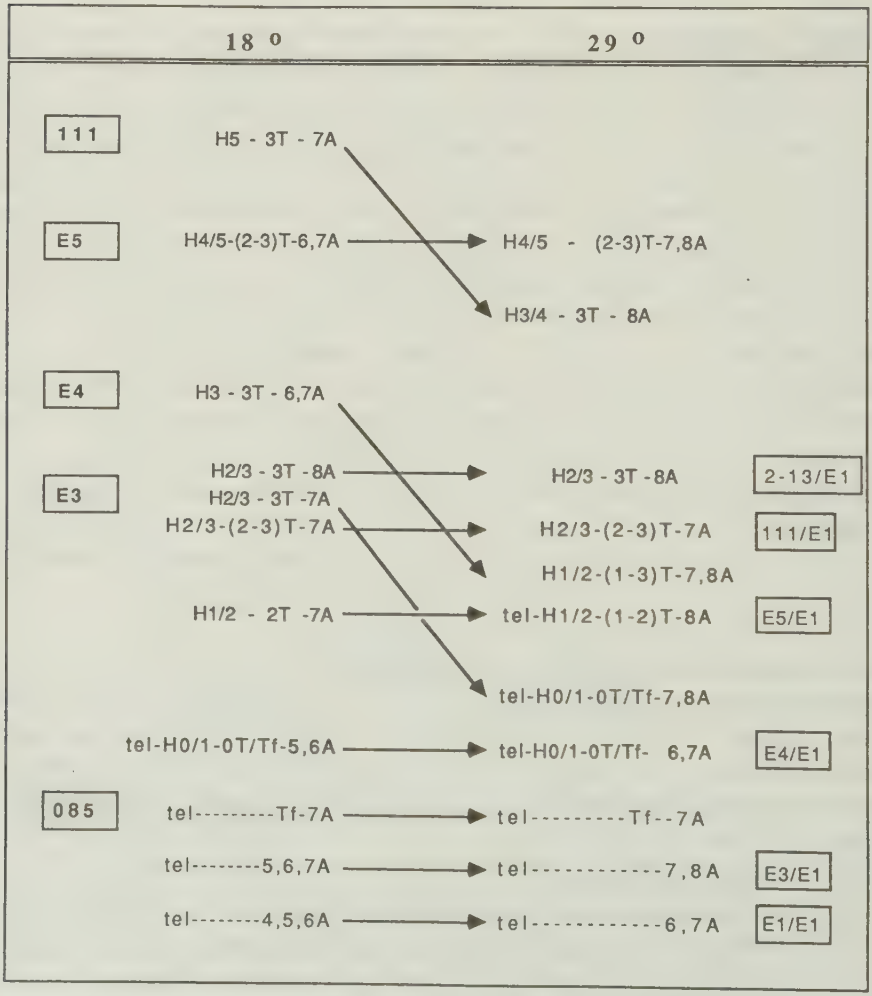
H5: Die Strukturelemente des Kopfes sind alle vorhanden, aber die relative Anordnung der Teile des Kopfskeletts zueinander ist gestört.

H4: Die Derivate des Labrums, Labralsklerit und Dorsale Brücke, fehlen. Vertikalplatte (VP) und Dorsalarm (DA) sind verkleinert.

H3: Die dorsalen Teile des Kopfskeletts (VP&DA) sind ver-

Fig.106 A *bcd*, hypomorphe Allele, Schema

Von oben nach unten sind die *bcd* Allele nach ihrer phänotypischen Stärke aufgetragen. Die Pfeile demonstrieren temperaturabhängige Veränderungen. Bezeichnungen links: Allele homozygot. H, T, A: Siehe "Abkürzungen und formalisierte Schreibweisen".
Tel! Alle Phänotypen haben posterior ein normales Telson.



schwunden. Der Bereich der Ventralarme und der Lateralgräten ist verkleinert aber noch erkennbar; die Basis des Kopfskeletts ist somit noch erhalten.

H2: Das Kopfskelett ist in einzelne Skleritteile aufgelöst. Einzelne Skleritspangen sind noch in anteroposteriorer Reihenfolge angeordnet.

H1: Nur noch einzelne (oft 1-2) sklerotisierte Teile sind vorhanden; sie weisen keine Beziehung zur ursprünglichen Orientierung des Kopfskeletts mehr auf.

H0: Sklerotisierte Teile, die als Reste von Kopfstrukturen gedeutet werden können, fehlen.

In meinen Beschreibungen habe ich die normalen Embryonen des Typs H6 meist mit zur Klasse H5 gezählt. Gelegentlich erscheint es sinnvoll, das Schema weiter zu differenzieren: $H4^+$, $H4^-$, $H3^+$, $H3^-$. Das Verschwinden von Kopfstrukturen beginnt im Labrum (H4). Damit bahnt sich eine anteroposteriore Ordnung für die Reihenfolge an, in der bestimmte Kopfstrukturen bei anwachsender Allelstärke ausfallen. In den folgenden Stufen H3, H2, H1 ist jedoch eine derartige Reihenfolge nur undeutlich ausgebildet. Alle Teile des Kopfskeletts werden gleichzeitig von der Reduktion erfaßt. Allerdings sind die dorsalen Teile akronaler Herkunft (VP&DA) stärker reduziert als die ventral liegenden Derivate der Kiefersegmente; weiterhin erscheinen die anterioren, nach der Kopfinvolution (Fig.104) im Embryo hinten gelegenen ventralen Teile (Ventralarme VA, Posteriore Pharynxwand ppw) stärker betroffen als die posterioren, vorne liegenden Teile (Lateralgräten LG, H-Stück, Mundhaken mh).

Ähnlich den großen Skleritplatten werden auch eher punktförmig angelegte Strukturen wie die Kopf-Sinnesorgane nicht bei einer bestimmten phänotypischen Stärke glatt eliminiert, sondern erfahren eine schrittweise Reduktion, indem sie fortlaufend an Größe und Struktur verlieren. Die phänotypische Stärke, bei der ein bestimmtes Organ aufhört, identifizierbar zu sein, hängt daher mehr von der Größe und Struktur des Organs als von seiner anteroposterioren Position ab. Die großen Sinnesorgane des Anterioren Lappens (Antennales und Maxillares Sinnesorgan) verschwinden etwa bei der phänotypischen Stufe H2.

Um ein Allel oder eine Allelkombination zu charakterisieren, werden i.d.R. 2 der Stufen H1-5 benötigt. Einerseits läßt sich das Klassifikationssystem nicht eindeutig auf die realen Phäno-

Fig.106 B *bcd*, schwache und mittelstarke Allele, transheterozygote Kombinationen, Kutikula Phänotyp

	2-13	S	*111*	S	*E5*	S	*E4*	T
111	-	100%	H5-3T-7,8A	25%				18°
	H4/5-3T-8A	89%	H4/3-3T-8A	2%				29°
E5	-	100%	H5-(2-3)T-6,7A	36%	H4/5-(2-3)T-6,7A	1%		18°
	H4 - 3T-8A	22%	H4/5-(3T)-8A	34%	H5/4/3-(3T)-8A	0%		29°
E4	H4⁺-3T-8A	‹66%›	H5-3T-8A	25%	H4/5-3T-7A	16%	H3-3T-6,7A	18°
	H4⁺-3T-8A	‹24%›	H3-3T-8A	0%	H2/3-(2-3)T-8A	0%	H2-(1-3)T-7,8A	29°
E3	H3/4-3T-8A		H3/4-3T-8A		H3/4-(3T)-8A		H1/2-2T-7,8A	18°
	H3/4-3T-8A		H3-3T-8A		H3/2-(2-3)T-8A		tel-HO/1-(Tf)-7A	29°
E1	H2/3-3T-8A		H2/3-(2-3)T-7A		tel-H1/2-2T-7A		tel-HO/1-(Tf)-7A	18°
	H2/3-3T-8A		H2/3-(2-3)T-8A		H1/2-1-2T-8A		tel-HO/1-(Tf)-6,7A	29°
Df LIN	tel-HO/1-(2-3)T-8A		H2/3-(3T)-8A		H1/2-2T-7A		tel-HO/1-(Tf)-7A	18°
	H1/2-(2-3)T-8A		H2/3-(3T)-8A		H1/2-(2-3)T-8A		tel-HO/1-(Tf)-6,7A	29°

S = Anteil geschlüpfter Embryonen

‹...› = Während bei den übrigen Genotypen die geschlüpften Tiere häufig ein ziemlich normales Kopfskelett besitzen, zeigten bei diesem Genotyp die geschlüpften wie die ungeschlüpften Embryonen einen einheitlichen, in Anbetracht der Schlüpfrate recht starken Kopfphänotyp.

Tel! Alle Phänotypen besitzen posterior ein normales Telson.

(3T) Thorax häufig unvollständig

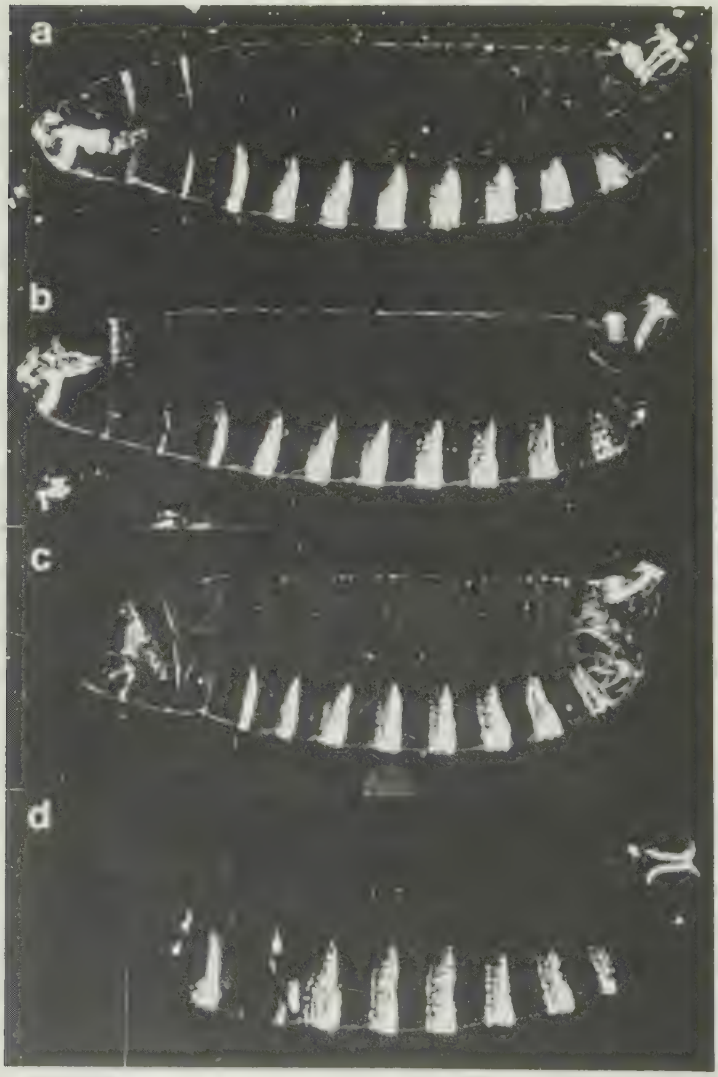
typen anwenden, andererseits entsprechen die 2 Stufen der tatsächlichen phänotypischen Variation, die in einem Gelege gefunden werden kann.

111, E4, E3: Die Allele bcd^{111}, bcd^{E4} und bcd^{E3} zeigen gleichartiges Verhalten bei Veränderung der Temperatur: Die anterioren Strukturen reagieren wärmesensitiv, die abdominalen Strukturen kältesensitiv. Die drei Allele unterscheiden sich deutlich in der phänotypischen Stärke. Die allelischen Unterschiede zusammen mit den Temperaturdefekten ergeben eine ausreichende Variation, um eine kontinuierliche phänotypische Serie darzustellen, die von leichten Kopfdefekten (bcd^{111}/bcd^{111} bei 18°C) bis zum vollständigen Verlust thorakaler und cephaler Strukturen (bcd^{E3}/bcd^{E3} 29°C) reicht (Fig.106A&B).
Abdomendefekte treten meist nur bei niedriger Temperatur (18°C) auf. Sie sind bereits beim schwachen Allel bcd^{111} zu finden; sie nehmen in Frequenz und Ausmaß nur geringfügig mit der Allelstärke zu. Der Ausfall betrifft meist A4, gelegentlich A4 und A2, oder A4 und A3.
Die Reduktion des Thorax dagegen ist wärmesensitiv wie die Kopfreduktion. Im phänotypischen Bereich H3/2 (bcd^{E3}/bcd^{E3} bei 18°C, bcd^{E1}/bcd^{111}) treten die ersten Defekte in der Thoraxregion auf. Das vDB^{T1} kann reduziert sein. Häufiger ist das vDB^{T2} eliminiert oder die Keilin`s Organe in T2 und/oder T1 fallen aus. Bei zunehmender Allelstärke wird auch das vDB^{T3} betroffen (bcd^{E4}/bcd^{E4} 29°C), doch daneben bleiben Teile des vDB^{T1} bestehen. Gelegentlich finden sich hinter einem vDB^{T1} 3 Paar Keilin Organe, jedoch kein weiteres thorakales Zähnchenfeld mehr (Fig.135d); d.h. trotz starker Reduzierung bleibt die thorakale Region weiterhin aus Bestandteilen von drei Segmenten zusammengesetzt. Auch wenn ventral keine segmentalen Unterteilungen mehr erkennbar sind, finden sich auf der dorsalen Seite häufig noch alle thorakalen Segmentgrenzen (bcd^{E4}/bcd^{E4} 29°C, bcd^{E3}/bcd^{E3} bei 25°C)(Fig.101c); die dorsale Seite ist generell schwächer betroffen. In diesem phänotypischen Bereich (Stufe H2) herrscht eine große Variabilität im Thoraxmuster; Embryonen mit 1-3 vDB`s können zusammen in einem Gelege vorkommen. Bei stärkeren Allelen (bzw. höherer Temperatur) treten Embryonen auf, die fast alle Kopf- und Thoraxstrukturen verloren haben. Die Gelege werden wieder einheitlicher und bestehen aus den charakteristischen

Fig.107 *bcd*, hypomorphe Phänotypen (18°C)

a) bcd^{2-13}/bcd^{GB}; H4-3T-8A-Tel.
b) bcd^{2-13}/bcd^{E1}; H3/4-3T-8A-Tel.
c) $bcd^{2-13}/bcd^{Df\ LIN}$; tel-(2-3)T-8A-Tel.
d) $bcd^{E4}/bcd^{Df\ LIN}$; tel-H1-(T?)-(7-8)A-Tel.

Der Unterschied in der Stärke des Kopfdefekts in (a) und (b) ist zwar vermutlich allelspezifisch, doch er ist geringer als die Unterschiede in einem Gelege. Dagegen erzeugt die Kombination (c) einen distinkt stärkeren Phänotyp.



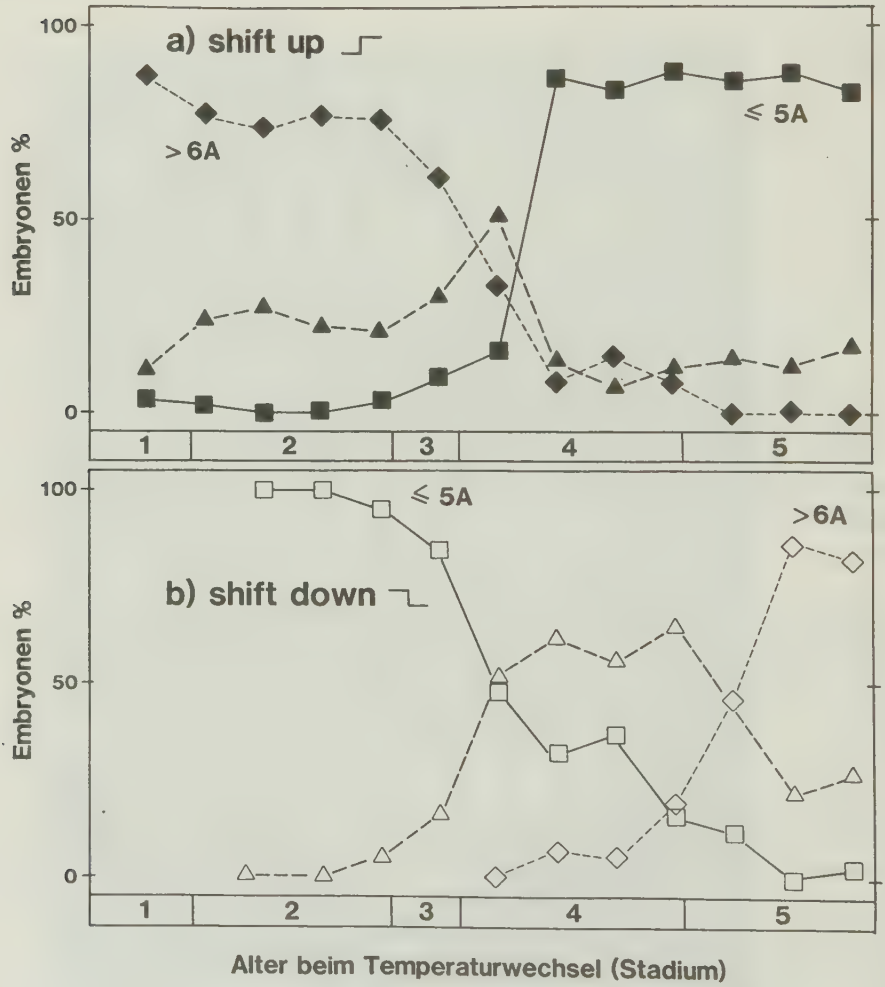
Phänotypen (tel)-HO/1-(Tf)-6,7A-Tel (bcd^{E3}/bcd^{E3} 29°C). Die letzten Reste von Kopf (H1) und Thorax (Tf) verschwinden also bei etwa derselben allelischen Stärke. Doch noch bevor Kopf und Thorax vollständig eliminiert sind, treten duplizierte Telsonstrukturen am anterioren Ende auf. Meist werden zuerst die Analplatten sichtbar, dann der Tuft und schließlich die Filzkörper.

E5: In seiner allelischen Stärke ist bcd^{E5} vergleichbar mit bcd^{111}. Es zeigt jedoch zwei besondere Eigenschaften (Fig.106,135c): (1.) Das Ausmaß anteriorer Defekte nimmt mit der Temperatur nicht oder nur schwach zu; das temperatursensitive Verhalten ist also verschieden. (2.) Trotz des schwachen Defekts in der Kopfregion (vergleichbar mit bcd^{111}) zeigt bcd^{E5} (anders als bcd^{111}) deutliche Defekte in der Thoraxregion. Ich will die Situation, daß kleine Defekte über einen großen Bereich des anteroposterioren Musters verstreut sind, als delokalisiertes Defektmuster bezeichnen. Die phänotypische Variabilität in einzelnen Gelegen, aber auch der Unterschied, der zwischen Gelegen von verschiedenen Tagen gefunden werden kann, scheint mir bei bcd^{E5} größer als es bei den oben besprochenen Allelen der Fall war. Während der Kopfdefekt bei 29°C stärker war, verstärkten sich die Thoraxdefekte zusammen mit den abdominalen Störungen bei 18°C.

Transheterozygote Kombinationen: Wird beispielsweise bcd^{111} mit bcd^{E4} oder bcd^{E3} kombiniert, wird ein intermediärer Phänotyp ausgebildet, der selbst wiederum temperatursensitiv ist. In Kombination mit bcd^{E5} ist der temperatursensitive Effekt abgeschwächt. Beide Eigenschaften, allgemeine Allelstärke und temperatursensitives Verhalten, zeigen also in Transkombinationen intermediäres Verhalten. In Kombination zwischen schwachen und starken Allelen (z.B. bcd^{E1}, Fig.106) zeigt die anteriore Region merkwürdigerweise keinen deutlichen Temperatureffekt, nur die abdominale Temperatursensitivität bleibt noch bestehen.
In trans über den schwächeren Allelen unterscheiden sich die 5 starken Allele und die Defizienzen nur wenig voneinander. Vergleiche lassen sich am besten in einem phänotypischen Bereich durchführen, in dem nur noch wenige anteriore Strukturen ausgebildet werden; diesen Bereich erreichen die starken Allele in Kombination mit bcd^{E3} bei 18°C. Die folgende Tabelle gibt die

Fig.108 Temperatursensitivität von bcd^{E1}/bcd^{E1}

a) Up-Shift: 18° ->29°C b) Down-Shift: 29° ->18°C
Zur Auswertung der phänotypischen Effekte wurden die Embryonen nach der Zahl ihrer abdominalen Segmente in 3 Klassen eingeteilt ($n_a \leq 5A$, $5A < n_a \leq 6A$, $6A < n_a$), und die Häufigkeit jeder Klasse im Diagramm eingetragen. Die Embryonen sind zwischen Polzellbildung (S3) und Beginn der Zellularisierung (S5) temperatursensitiv.



Häufigkeit von Thorax- (Tf, 1T) und Kopfresten (H1) an:

	0T,H0	Tf,H0	Tf,H1	1T,H0/1
Df 9A99/E3	25%	75%	0%	0%
Df LIN/E3	33%	16%	50%	0%
E2/E3	46%	46%	8%	0%
33-5/E3	31%	52%	17%	0%
E1/E3	12%	63%	25%	0%
23-16/E3	0%	25%	63%	12%
GB/E3	0%	25%	38%	38%

Daraus ergibt sich für die Allelstärke etwa folgende Reihenfolge:

Df bcd ≈ E2 ≈ 33-5 ≈ E1 > 23-16 > GB

2-13: Das Allel bcd^{2-13} ist lebensfähig über der Defizienz und zeigt im Chromosomenpräparat keine zytologische Aberration; homozygot lebensfähige Rekombinanten konnten bisher jedoch noch nicht gefunden werden. Daher kann bcd^{2-13} nur in transheterozygoten Kombinationen untersucht werden (Fig.106):

- Es egalisiert die Wärmesensitivität von bcd^{E3} und bcd^{E4}, und erscheint damit als kältesensitiv.
- Die Phänotypen der Kombinationen haben ein streng lokalisiertes Defektmuster, das heißt, anteriore Teile des Musters sind weitgehend eliminiert, ohne daß die Defekte in weiter posterior gelegene Bereiche als Segmentierungsstörungen ausstrahlen. bcd^{2-13} stellt damit ein Gegenstück zu bcd^{E5} dar.
- Während die Unterschiede zwischen starken Punktmutanten und Defizienzen in allen anderen Kombinationen relativ klein sind, erfährt bcd^{2-13} über *Df(3R)LIN* (und auch *Df(3R)9A99*) eine weit intensivere Verstärkung als über jeder Punktmutante. In dieser Kombination kommen auch die beiden Eigenschaften, Kältesensitivität und lokalisiertes Defektmuster, am deutlichsten zum Ausdruck (Fig.107a-c).
- In Kombination mit anderen schwachen Allelen verhält es sich als das schwächste unter den schwachen, in Kombination mit der Defizienz als das stärkste unter den schwachen Allelen (siehe dazu B-I-22 "Amorpher Phänotyp").

085-13: Dieses Allel ist bisher noch kaum untersucht worden. Es

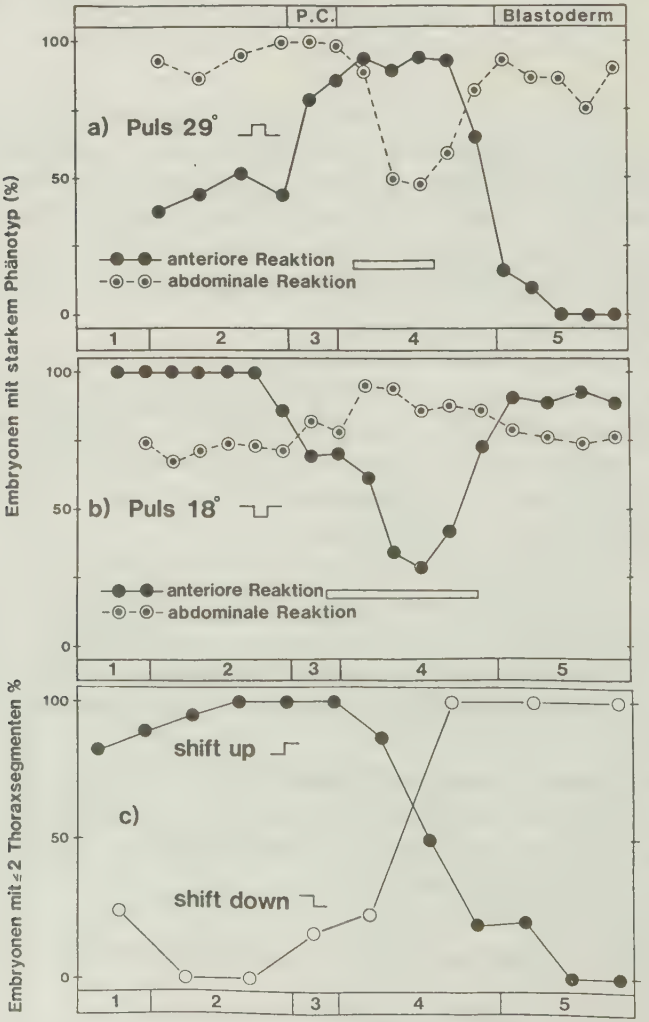
Fig.109 Temperatursensitivität von bcd^{E3}/bcd^{E3}

a,b) Temperatur-Pulse (29°C, 18°C). Die Verstärkung/Abschwächung der Kopfdefekte weist dieselbe temperatursensitive Periode (Stadium 4) auf wie die Reduktion der abdominalen Segmentzahl. Die Querbalken zeigen die Dauer der Temperaturpulse an. 18°- Pulse ergaben trotz langer Pulsdauer (80 min) nur schwache phänotypische Defekte. 29°-Pulse (20 min) erzeugen fast ebenso starke Phänotypen, wie sie bei Embryonen gefunden werden, die ihre gesamte Entwicklung bei 29° durchlaufen haben.

c) Einfacher Temperaturshift; auch die Konversion zum schwachen 18° Phänotyp ist nun vollständig.

Kriterien für "starken Phänotyp":
anterior: (a) weniger als 2 vDB^T
(b) weniger als 1 vDB^T
(c) weniger als 2 vDB^T
abdominal: (a)&(b) weniger als 7 vDB^{A_1-8}

P.C.: Polzellstadium
Blastoderm: Zellularisierung, syncytiales Blastoderm)



ist nicht temperatursensitiv (im Hinblick auf die anterioren Strukturen). Allerdings zeigen für den fraglichen phänotypischen Bereich auch andere Allelkombinationen keine deutliche Temperaturabhängigkeit. Das Defektmuster ist eher als lokalisiert zu beurteilen.

2.3. Temperatursensitive Periode

In *bcd*^{E1} sinkt die abdominale Segmentzahl mit der Temperatur:

18°: tel--(3),4,5,(6)A-Tel 29°: tel--6,7,(8)A-tel.

bcd^{E3} zeigt neben kältesensitiven abdominalen Defekten noch wärmesensitive anteriore Defekte:

18°: H2/3-(2-3)T-6,7,(8) 29°: H0/1-(Tf)-(6),7,8

Bei beiden Allelen wurde die Temperaturabhängigkeit im Zeitraum zwischen Eiablage und Gastrulation untersucht. Bei *bcd*^{E1} wurden einfache Temperatur-Shifts, bei *bcd*^{E3} außerdem Temperaturpulsexperimente durchgeführt. Die phänotypischen Veränderungen zeigten, daß die temperatursensitive Periode etwa in der Zeit der Polzellbildung beginnt, über das Stadium 4 anhält und im Stadium 5 endet (Fig.108, 109; Auswertung siehe Legende). Dies gilt für die abdominalen Defekte in *bcd*^{E1} und *bcd*^{E3}, wie auch für die anterioren Defekte in *bcd*^{E3}. In allen einfachen Shift-Experimenten vollzieht sich innerhalb dieses Zeitraums ein in etwa vollständiger Wechsel zwischen 18°-und 29°-Phänotyp. Bei den Pulsexperimenten bleiben die phänotypischen Reaktionen unvollständig. Daß 29°C-Pulse auch im Stadium 2 einen gewissen phänotypischen Effekt ausüben, widerspricht den Ergebnissen des einfachen Shifts und ist vielleicht durch einen zu schnell durchgeführten Temperaturwechsel (vorgewärmter Metallblock) zu erklären.

3. Entwicklung

3.1. Lebendbeobachtung (Fig.110,111)

bcd Embryonen entwickeln sich normal bis zur Blastodermbildung. Morphologische Abweichungen von der Wildtypentwicklung treten während der Gastrulation auf. Die Position von Kopffalte (prospektive Kieferregion) und posteriorer Mitteldarmamlage sind die wichtigsten Merkmale, um Veränderungen und Verschiebungen in den blastodermalen Anlagen festzustellen. Die Position der Kopffalte und damit der Anlagebereich des Kopfes reagiert sehr sensitiv auf Veränderungen in der *bcd*$^{+}$ Aktivität: Eine zusätzliche *bcd*$^{+}$ Kopie in den eierlegenden Weibchen bewirkt eine im Vergleich zum Wild-

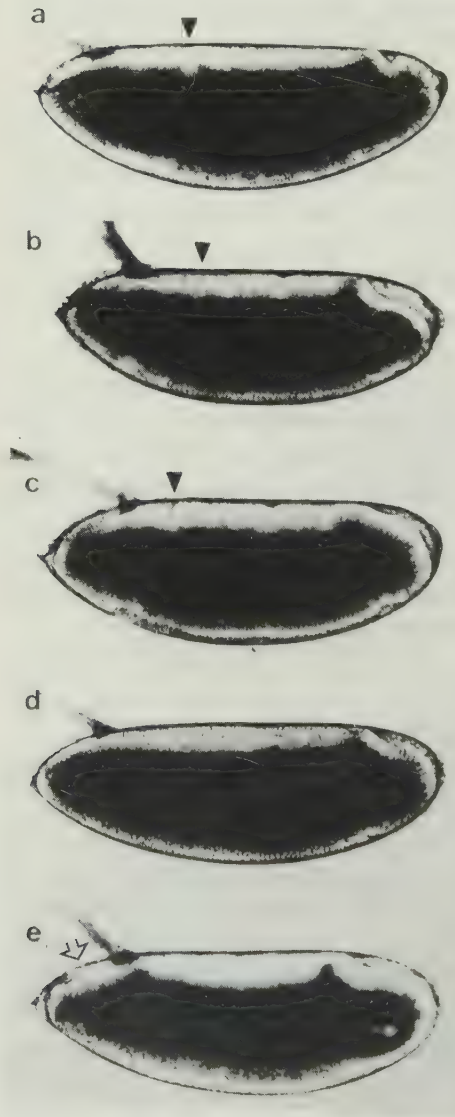
Fig.110 Änderung des Gastrulationsmusters bei Verringerung der *bcd*$^{+}$ Aktivität im Ei (Lebendbeobachtung).

a) *Dp bcd*$^{+}$; bei erhöhter *bcd*$^{+}$ Aktivität im Ei ist die Kopffalte (kleine Pfeile) nach hinten verschoben. Bei diesem Genotyp ist häufig die Eiform etwas anormal.

b) *Wildtyp;*
c) *bcd*^{GB}*/+;*
d) *bcd*^{E1}*/bcd*^{E1}*;*

} { Bei verringerter *bcd*$^{+}$ Aktivität verschiebt sich die Kopffalte nach vorn, und verschwindet schließlich.

e) *bcd*^{E1}*/bcd*^{E1}, starker Phänotyp; anterior ist ein duplizierter Hinterer Mitteldarm zu erkennen (großer Pfeil).



Die Kopffalte in den abgebildeten Embryonen liegt bei 62% EL (a), 65% EL (b) und 71% EL (c) (bei Messung auf halber dorsoventraler Höhe). In *Dp bcd*$^{+}$ ist die Position der Kopffalte allerdings starken Schwankungen unterworfen; häufig nimmt sie wie hier in (a) eine sehr steile Lage im Ei ein.

Fig.111 Gastrulation in *kls* bcd^{E1}/*kls* bcd^{E1}, Lebendbeobachtung

Der Embryo zeigt zunächst die symmetrischen Invaginationsbewegungen von Hinterem Mitteldarm an beiden Enden, wird aber bald nach Beginn der Gastrulation asymmetrisch.
klarsicht (kls) ist eine maternale Mutante, die die optischen Eigenschaften des Ei-Zytoplasmas beeinflußt.

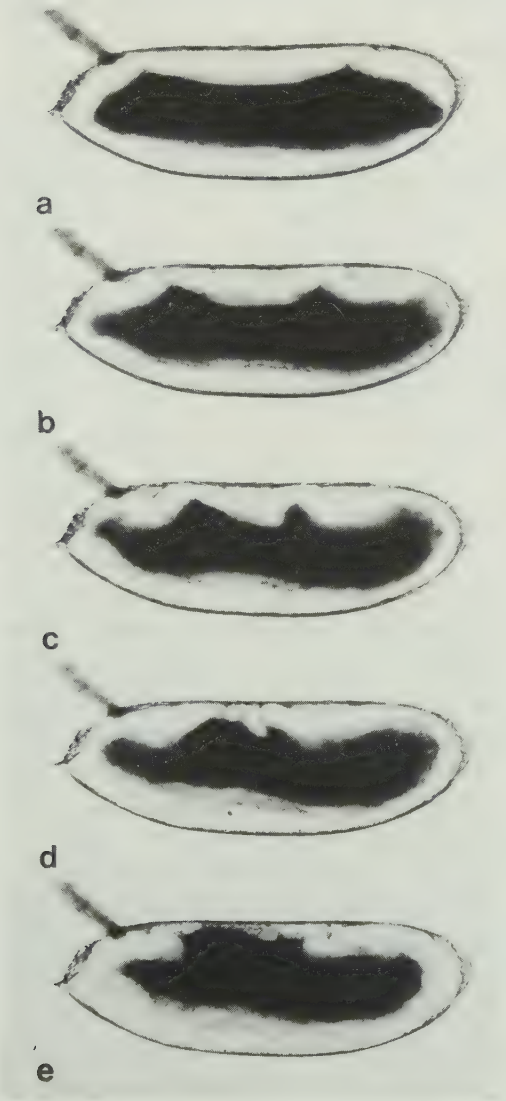
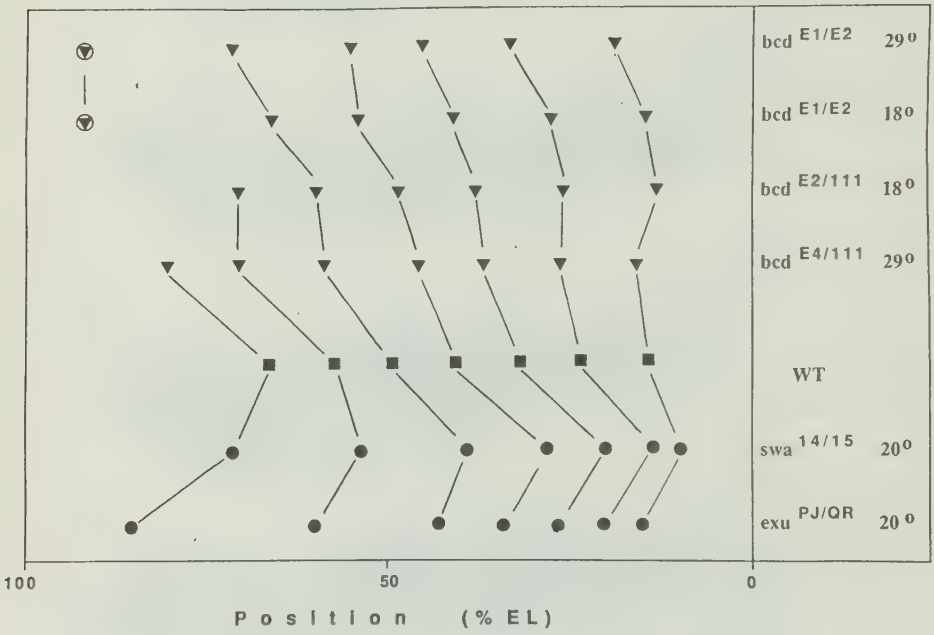


Fig.112 Expression des *ftz*-Musters

Die β-Galaktosidase Färbung tritt zuerst während der Gastrulation auf der Ventralseite der Embryonen auf. Für jeden Genotyp wurden die Streifenpositionen als Mittelwert von vier Embryonen errechnet; von *exu* stand allerdings nur ein Exemplar geeigneten Alters zu Verfügung. Die Streifenbreite wurde nicht ausgewertet, sie läßt sich jedoch anhand von Fig.113 & 121 abschätzen.
In bcd *vergrößert sich die Abdominalregion auf Kosten von Kopf und Thorax. In* exu *und* swa *ist dagegen die Thoraxregion vergrößert, die abdominale Anlageregion jedoch komprimiert.*

▼ Duplizierter Streifen (PS14)



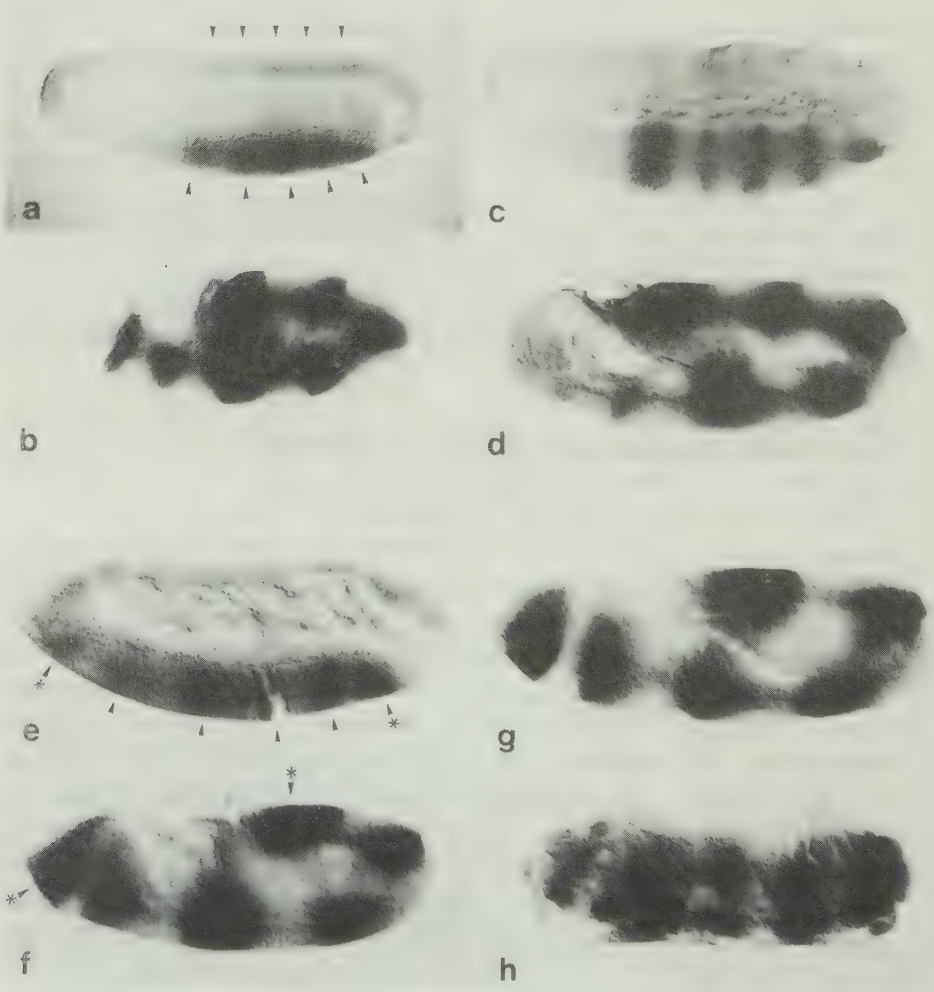
typ nach hinten verschobene Kopffalte im Embryo, während eine Deletion (*bcd⁻/+*) zu einer anterioren Verschiebung führt. Trotz dieses veränderten Gastrulationsmusters differenzieren die betroffenen Tiere in der Regel ein normales kutikulares Muster und wachsen zu Adulten heran. Mit weiterer Verringerung der *bcd⁺* Aktivität in schwachen Allelen (homozygot) wird die Kopffalte weiter nach anterior verschoben, wird schwächer in ihrer Ausprägung und verschwindet endlich (bcd^{E4}/bcd^{E4})(Fig.110c). Mit dem Verschwinden der Kopffalte wird am Vorderende eine verdickte, abgesetzte Zellplatte erkennbar. In starken Allelen ist diese Struktur voll ausgeprägt und als duplizierter Hinterer Mitteldarm erkennbar (Fig.111). Nicht mitdupliziert sind die Polzellen, die im *WT* dem Hinteren Mitteldarm aufliegen. Soweit dies von der Lebendbeobachtung her beurteilt werden kann, ist auch kein posteriores Polplasma am anterioren Ende dupliziert.
Das Verhalten von Kopffalte und Hinterem Mitteldarm entspricht der Reduktion anteriorer Strukturen und der Telsonduplikation in den Kutikula-Phänotypen. Der differenzierte mutante Phänotyp läßt sich damit auf Veränderungen im blastodermalen Anlagenplan zurückführen.

3.2. Expressionsmuster von *ftz* (Fig.112,113)

Der Mangel an morphologischen Strukturen während der Gastrulation läßt viele Fragen über die Veränderung des Anlagenplans in *bcd* offen. Einen Ausweg bietet die Verwendung molekularer Marker. Das Expressionsmuster des Paarregel Gens *fushi-tarazu (ftz)* markiert mit 7 äquidistanten Streifen jede zweite Segmentgrenze zwischen A9/A8 (=PS 14) und Li/Mx (=PS2). Fliegen, die mit einem Konstrukt aus *ftz*-Promotor und β-Galaktosidase Strukturgen transformiert sind, erlauben eine einfache Methode, das Muster der *ftz* Expression als β-Galaktosidase-Färbung sichtbar zu machen (Hiromi et al. 1985). Die Galaktosidase-Färbung beginnt während der Gastrulation erkennbar zu werden. Wegen der beginnenden Ausstreckung des Keimstreifs läßt sich die ursprüngliche blastodermale Position der *ftz* exprimierenden Zellen, insbesondere derjenigen im hinteren Eibereich nicht mehr ganz exakt feststellen.
Die Untersuchung des Streifenmusters in verschiedenen Allelen von *bcd* erbrachte folgende Ergebnisse (Fig.112,113):
- Bei schwachen Allelen sind die vorderen Streifen leicht nach

Fig.113 Expressionsmuster von *ftz* in *bcd*

a,b) bcd^{E4}/bcd^{111}, 29°; Stadium 6 und 9; die beiden schwachen vorderen Streifen werden erst nach der Gastrulation sichtbar.
c,d) bcd^{E2}/bcd^{111}, 18°; Stadium 6 und 9;
e-h) bcd^{E1}/bcd^{E2}, 29°; Stadium 6,9,10 und 13.
In vielen Embryonen waren die Parasegmentfalten am Vorderrand der *ftz* Streifen stärker ausgeprägt als an deren Hinterrand (g).
Stern: PS14 Pfeile: Position der Streifen



vorne verschoben. Mit zunehmender Allelstärke verstärkt sich die Expansion nach anterior: Alle Streifen, vielleicht mit Ausnahme des letzten verschieben sich nach vorne.

- Die beiden vordersten Streifen, die prospektive Kopf- und Thoraxregion markieren, werden schwächer und verschwinden. Solange sie sichtbar sind, verringern sie jedoch nicht ihren Abstand zueinander (Fig.113). Während also die Größe der Kopf-/Thoraxanlage als ganzes abnimmt, ist eine Verkleinerung der Anlagen in dieser Teilregion (≈Thorax) bei der durch die *ftz*-Expression vorgegebenen Auflösung nicht feststellbar.
- Der dritte Streifen, der die Grenze zwischen Thorax und Abdomen markiert verbreitert sich.
- Beim starken Phänotyp (bcd^{E1}/bcd^{E2}) erscheint am Vorderende ein neuer Streifen. Er liegt am Rand der vorderen Proktodäumsinvagination und ist daher eindeutig als Duplikation eines 7. (posterioren) *ftz* Streifens zu identifizieren, der die Grenze A9/A8 des invertierten Telsons markiert. Die verbleibenden 5 Streifen sind verbreitert. Ihre Verteilung über das Blastoderm ist variabel und abhängig von der Temperatur. Vorzugsweise bei 18°C rücken die vorderen zwei oder drei Streifen zu einer Gruppe zusammen. Falls weniger als fünf Streifen sichtbar bleiben, liegt dies an einer Fusion der vordersten Streifen.

Folgerungen:

1.) Parallel zur Reduktion anteriorer Strukturen dehnt sich die abdominale Anlage (*ftz*-Streifen 3-7) nach vorne aus.

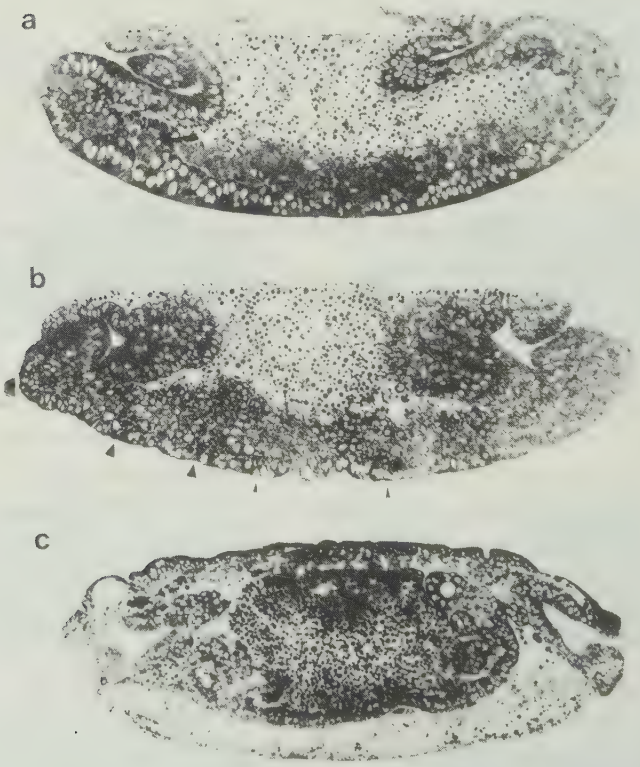
2.) Der *bcd* Phänotyp setzt sich aus Defekten in einer expandierten Anlage (Abdomen) und Defekten in einer verkleinerten Anlage zusammen. Der dritte *ftz* Streifen trennt zwei Domänen, auf die die *bcd* Funktion Einfluß in sehr unterschiedlicher Weise ausübt.

3.3. Weiterentwicklung nach der Gastrulation

Mit der Determinierung der Parasegmentgrenzen bis zur Gastrulation sind die grundlegenden Raster für die Unterteilung der anteroposterioren Achse festgelegt. Wesentliche Änderungen für die Ausgestaltung des endgültigen Musters können sich noch aus lokalisiertem Zelltod ergeben (Lehmann 1985, Ingham at al.85). In *bcd* (starke Allele bcd^{E1}/bcd^{E2}) kommt es zu gehäuftem Zelltod im vorderen Drittel des Embryos, möglicherweise ein Mechanismus, der die Expansion des anterioren Abdomens kompensiert. Abgestorbene (sterbende) Zellen werden in histologischen Schnitten als kleine

Fig.114 *bcd*^{E1}/*bcd*^{E2}, 18°; histologische Schnitte

a) Stadium 8 [(zweite ?) mesodermale Mitose]. Vereinzelte Zellen, anterior, an der Innenseite des Mesoderms scheinen nekrotisch zu werden.
b) Stadium 10 [Parasegmentfalten]. Regionen mit abgestorbenen Zellen sind in allen Embryonen zu finden. Häufig finden sich zwei benachbarte Foci am anterioren Ende (vermutlich PS6 und PS7).
c) Stadium 13 [Neuropil im CNS].



runde, intensiv gefärbte, durch granulierte Musterung von Dotterkugeln unterscheidbare Punkte sichtbar. Defekte Zellen sind zuerst anterior- dorsal im Mesoderm zu beobachten (Fig.114a). Bis zum Erscheinen der ektodermalen Parasegmentfalten hat sich der Zelltod intensiviert und sich auf Epidermis (und Nervensystem ?) ausgebreitet; häufig sind die nekrotischen Zellen in zwei anterioren ventralen Foci konzentriert (Fig.114b). Im Stadium der ausgestreckten Keimanlage bleibt häufig eine Lücke im ventralen Zentralnervensystem zurück, so daß am anterioren Ende 1 oder 2 isolierte Ganglienknoten zu liegen kommen; ich kann nicht beurteilen, ob sie der invertierten Abdomen-Telson Region zuzuordnen sind.

An den beiden Enden differenziert sich jeweils ein Proktodäum.

Fig.115 *bcd*^{E1}*/bcd*^{E2}, 18°; rasterelektronenmikroskopische Bilder
Ansicht: (a) anteroventral, (b) anterodorsal.
(vgl.Wildtyp: Turner und Mahowald 77)

a) Ausgestreckter Keimstreif, Parasegmentfalten, Tracheale Plakoden.
Durch Vergleich mit Fuchsin/β-Gal gefärbten Embryonen läßt sich die Lage der Parasegmente im Embryo herausfinden. Die eingezeichneten Pfeile umschreiben die mutmaßliche Position von PS6 bis PS10. In diesem Bereich fehlen zwei Grenzen (Pfeilspitzen): PS14/PS6 und PS7/PS8. Das hier abgebildete Muster von Parasegmentgrenzen findet sich häufig in Embryonen von 18°, bei denen sich die anterioren *ftz* Streifen stark einander annähern (ähnlich: Fig.114b, verschieden: Fig.113g).

b) Zurückgezogener Keimstreif; Segmentfalten.
Pfeilspitzen: Analplatten, Spirakelhörnchen.

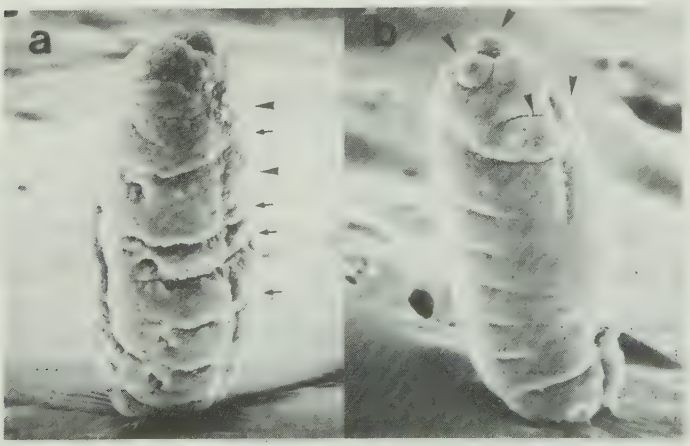


Fig.116 Chromosomale Aberrationen in der Region von *exu*

Nachkommen von Weibchen des Genotyps *C(1)RM,y/Dp(2;Y)R31;exu^{PJ}/exu^{QR}* zeigen keinen *exu* Phänotyp. Die bekannten Defizienzen von *Punch (Pu)* schließen *exu* aus. Meine Versuche, synthetische Defizienzen im proximalen Bereich von *Dp R31* herzustellen, waren nur teilweise erfolgreich. Die Weibchen des Genotyps *T(2;Y)R93^{P} L107^{D}/exu^{PJ}* waren steril (keine entwicklungsfähigen Eier), die Kombination *T(2;Y)L139^{P} L107^{D}* dagegen klar *exu^{-}*. Die Kombination *T(2;Y)L141^{P} L107^{D}* war wohl *exu^{+}*; es kamen in den Gelegen jedoch einige Embryonen mit Kopfdefekten vor, und der sichtbare Phänotyp zur Identifizierung der mutanten Weibchen war nicht ganz eindeutig (die Duplikationen *Dp y^{+}*, die in den Translokationsstämmen vorkommen, führen homozygot zu einer übermäßig starken Behaarung der Flügel, haben jedoch auch einen etwas schwächeren, aber gleichartigen dominanten Effekt). Danach liegt *exu* in der Region 56F, möglicherweise etwas weiter rechts in 57A,B.

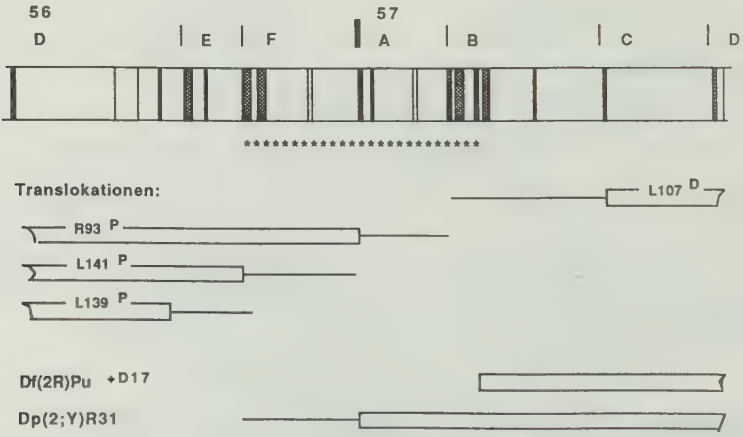


Fig.117 Allele von *exuperantia (exu)*

Allel	Abkürzg.	Marker	h.v.	Allel= stärke
PJ42	*PJ*	cn bw b pr cn sca bw	+ ++	**
QR9	QR	cn bw	++	**
SC02	*SC*	cn bw bw	+++	*
h.v. homozygot lebensfähig, Abschätzung der relativen Vitalität				

II *EXUPERANTIA* UND *SWALLOW*

1. Zytologie

Es ist keine Deletion bekannt, die *exuperantia (exu)* aufdeckt. Jedoch mit Hilfe einer synthetischen Deletion, einer Duplikation und weiter distal liegenden Deletionen kann die Position von *exu* auf die Region 56F-57B eingegrenzt werden (Fig.116).
Allele von *swallow (swa)* werden nicht komplementiert von *Df(1)FJ5*; *swa* liegt damit in der zytologischen Region 5E6,7 (Stephenson und Mahowald, in Vorbereitung).

2. *exuperantia (exu)*

2.1. Allele und Phänotyp (Fig.118)

Die vier bekannten Allele wurden von Schüpbach und Wieschaus (86) isoliert und beschrieben. Die Allele unterscheiden sich phänotypisch wenig voneinander. Die anterioren Kopfstrukturen sind reduziert; daneben treten Defekte im posterioren Abdomen auf. Ich habe in fast allen Experimenten die Allele exu^{PJ} und exu^{PR} verwandt, gelegentlich auch exu^{SC} (Fig.117).
exu^{PJ}/exu^{PJ} bei 29°C: Bei hoher Temperatur fehlen die labralen Teile des Cephalopharyngealskeletts, die hintere (nach Anlagenplan anteriore) Pharynxregion ist reduziert, bzw kollabiert (Kopftyp $H3^{+}/4^{-}$). Der Boden von Atrium und Pharynx zwischen den Lateralgräten ist von kleinen sklerotisierten Trümmern übersät.
exu^{PJ}/exu^{PJ} bei 18°C: Bei tiefen Temperaturen ist das Cephalopharyngealskelett auf im einzelnen kaum identifizierbare Teile reduziert. Der Querbalken des H-Stücks ist meist noch zu erkennen (zusammen mit dem Speicheldrüsengang)(Kopftyp H2). Die verbleibenden Kopfstrukturen setzen sich zum größten Teil aus einem paarigen Lappen (=anteriorer Lappen) zusammen, der maxillare Strukturen (Cirri, mso, mh) und oft auch Antennen trägt (Kopftyp $H3^{-}/2$, gelegentlich H1). Die Antennen sind häufig deformiert, verkleinert oder eliminiert, manchmal auch verdoppelt.
Es gibt zweierlei Anzeichen für die Duplikation von posterioren Strukturen in der Kopfregion: Erstens sind in den meisten Embryonen Malpighische Gefäße am Vorderende zu sehen. Zweitens sind, wenn auch selten, Analplatten zu finden.
Der Phänotyp unterscheidet sich von *bcd*-Mutanten vergleichbarer Stärke durch die enorme Größe der Lappen, die die maxillaren

Fig.118 *exu^{PJ}/exu^{PJ}*, Kutikula-Phänotyp, a) 18°C, b) 29°C.

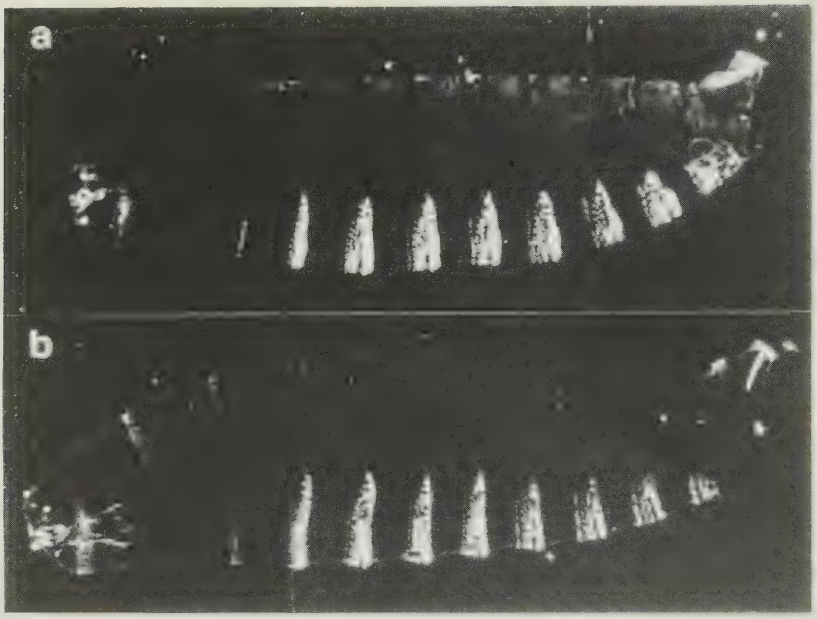
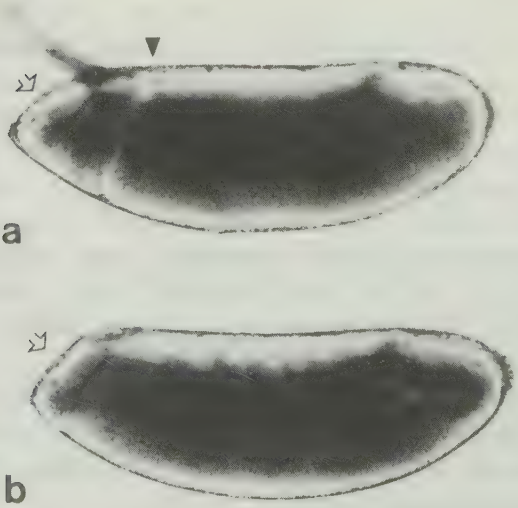


Fig.119 *exu^{PJ}/exu^{PJ}* in Gastrulation, Lebendbeobachtung
a) 29°,
b) 18°, duplizierter Hinterer Mitteldarm (großer Pfeil).



Strukturen tragen ($H2^{exu} \neq H2^{bcd}$). Das Defektmustern in *exu* ist daher schärfer lokalisiert als in *bcd* (und zwar auf das Procephalon im hier vorliegenden Phänotyp). Die Maxillenregion ist vielleicht nicht nur nicht verkleinert, sondern sogar vergrößert: Die beschriebenen Lappen können auch beim schwächeren 29°-Phänotyp gefunden werden; sie sind jedoch bei der starken Expression von *exu* größer als bei schwacher Expression (allerdings ist nicht klar, ob sich die Lappen in beiden Fällen aus genau denselben Anlagen entwickeln). Anzeichen für eine Vergrößerung der Region hinter der Ausfallzone lassen sich auch im Thorax finden: Die Anzahl der Sinnesstifte in den Keilins-Organen und die Zahl der Zähnchenreihen im vDB^{T1} ist gelegentlich erhöht.
Defekte im Abdomen sind weder bei 18°C noch bei 29°C häufig (≈10%). Gelegentlich kommt es zu partiellem Segmentausfall oder Fusionen im Bereich A7, A8. Häufig ist die Gesamtgröße des Hinterendes, insbesondere des Telsons, reduziert, ohne daß dabei bestimmte Strukturen eliminiert werden (Fig.118).
Allele: Das Allel exu^{QR} läßt sich von exu^{PJ} kaum unterscheiden, während exu^{SC} einen schwächeren Phänotyp produziert:

exu^{PJ}	exu^{QR}	exu^{SC}	
H3/4-3T-8A-Tel	H3-3T-8A-Tel	H4-3T-8A-Tel	29°C
H2/3-3T-8A-Tel	H2/3-3T-8A-Tel	H3-3T-8A-Tel	18°C

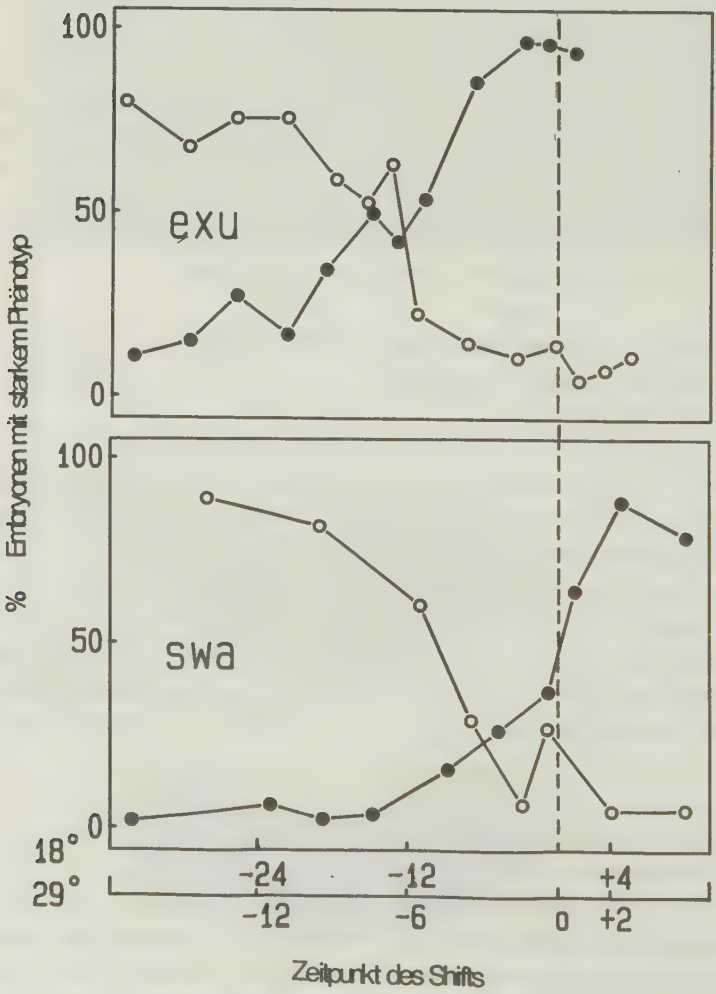
(Siehe dazu Fig.125)
Die synthetische Defizienz $T(Y;2)L139^{P}$ $L107^{D}$ wurde in trans zu exu^{PJ} untersucht. Die transheterozygoten Weibchen zeichneten sich nicht durch hohe Fertilität und Vitalität aus, und der Phänotyp konnte nur bei Raumtemperatur untersucht werden: Mit nahezu 100% Penetranz traten abdominale Segmentierungsdefekte auf, fast immer im hinteren Bereich des Abdomens. Möglicherweise ist exu^{PJ} nicht amorph; andererseits ist zu berücksichtigen, daß die synthetische Defizienz wahrscheinlich *tudor* einschließt, das in dieser Kombination einen dominanten Einfluß auf die Abdomenentwicklung ausüben könnte.

2.2. Temperatursensitive Periode (Fig.120)
Es ist die Temperatur während der Oozytenentwicklung, die bestimmt, ob die sich daraus entwickelnden *exu* Embryonen den starken 18°-Phänotyp oder den schwachen 29°-Phänotyp annehmen. Homozygote exu^{PJ} Fliegen wurden einem 18°-29°-18°C Temperaturwechsel ausgesetzt, um die phänokritische Periode auszumessen. Sie liegt

Fig.120 Temperatursensitive Periode von *exu* und *swa*
Die Zeitachse gibt den Abstand zwischen Eiablage und dem Temperaturshift für die Embryonen eines Meßpunkts. Bei *exu* liegt die temperatursensitive Periode während des letzten Tages der Oogenese, bei *swa* erstreckt sie sich bis in den Zeitraum der frühen Embryogenese.

●Shift nach 29°C
○Shift nach 18°C

Kriterien für starken Phänotyp:
exu: starker Kopfphänotyp (H2/3), Dorsalarme und Vertikalplatten fehlen.
swa: starker Abdominaldefekt, weniger als 7 Segmente.



zwischen -3 und -15h vor Eiablage bei 29°C, bzw. zwischen -6 und -30h bei 18°C (Fig.120). Das Experiment wurde zweimal ausgeführt, dabei einmal die Stärke des Kopfdefekts ausgewertet, einmal die Häufigkeit anterior duplizierter Malpighischer Gefäße abgezählt. Beide Male kehrte die Expression des Phänotyps nicht wieder vollständig zum Ausgangszustand zurück. Möglicherweise nimmt die phänotypische Stärke in geringem Umfang mit dem absoluten Lebensalter der eierlegenden Weibchen ab.

2.3. Entwicklung

Lebendbeobachtung: In *exu* verläuft die Entwicklung normal bis zur Blastodermbildung. Während der Gastrulation sind es, wie in *bcd*, Kopffalte und Hinterer Mitteldarm, die das mutante Muster kennzeichnen: Die Kopffalte ist nach vorne verschoben, und am Vorderende bildet sich eine Zellplatte aus, die die Duplikation eines Hinteren Mitteldarms anzeigt (Schüpbach und Wieschaus 1986). Die unterschiedliche Stärke des Phänotyps bei 18°C und 29°C zeigt sich auch im Gastrulationsmuster (Fig.119).
Die Verschiedenheit von *bcd* kommt darin zum Ausdruck, daß in *exu* Kopffalte und die duplizierte Zellplatte in einem Embryo deutlich nebeneinander sichtbar sein können, d.h. der Anlagebereich der Kieferregion bleibt noch weitgehend von einer Reduzierung verschont, während der procephale Bereich bereits durch duplizierte posteriore Strukturen ersetzt ist.

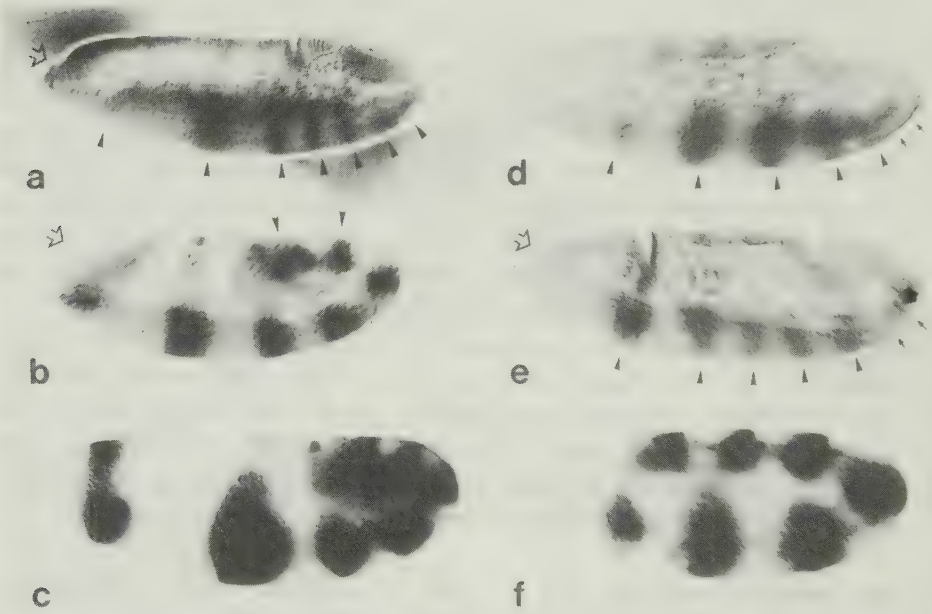
Expressionsmuster von *ftz*: Die Anfärbung des *ftz*-Expressionsmusters in exu^{PJ}/exu^{PJ} mit β-Galaktosidase zeigt alle 7 Streifen (Fig.112,121a-c). Die posterioren abdominalen Streifen sind (im Vergleich zum Wildtyp) nach hinten zusammengerückt. Von posterior nach anterior werden die Abstände zwischen je zwei einzelnen Streifen immer größer (insbesondere zwischen den vordersten drei Streifen), so daß die anterioren Anlagen weit nach vorne expandiert sind, wie es der Verschiebung der Kopffalte entspricht.

3. swallow (*swa*)

Mutante *swa* Embryonen zeigen Kopf- und Abdomendefekte, wie sie auch in *exu* gefunden werden. Bei 29°C lassen sich die Phänotypen beider Mutanten kaum unterscheiden. Bei 18°C jedoch werden einige Unterschiede deutlich:

Fig.121 *ftz* Expressionsmuster in *exu* und *swa*

a-c: exu^{PJ}/exu^{QR}, 20°; Stadien 6, 8 und 9.
d-f: swa^{14}/swa^{15}, 20°; Stadien 7, 7 und 10.
Die beiden letzten Streifen lassen sich oft nicht klar erkennen oder nicht unterscheiden (Pfeile statt Pfeilspitzen). Große Pfeile: anterior duplizierter Hinterer Mitteldarm.



- In *swa* ist der Kopfdefekt schwächer, der Abdomendefekt stärker ausgeprägt als in *exu* (Fig.125).
- Viele *swa* Embryonen zeigen abnormes Verhalten schon vor der Gastrulation. Die Zellularisierung ist gestört, so daß die Embryonen oft frühzeitig absterben und kein kutikulares Muster mehr ausbilden. Daneben kann die Anzahl der Polzellen verringert sein. Die frühe Entwicklung wurde von Zalokar et al.(75) in Fuchsinpräparaten untersucht.

Fig.122 Allele von *swallow (swa)*

Allel	Abkürzg.	Marker	h.v.	Allel-stärke
1502	*15*	v sc ec cv ct v v g f	++ ++	*
1497	*14*	v ct v v g f	+++ ++	**
Df(1)FJ5		-	-	***
h.v.: homozygot lebensfähig, Abschätzung der Vitalität				

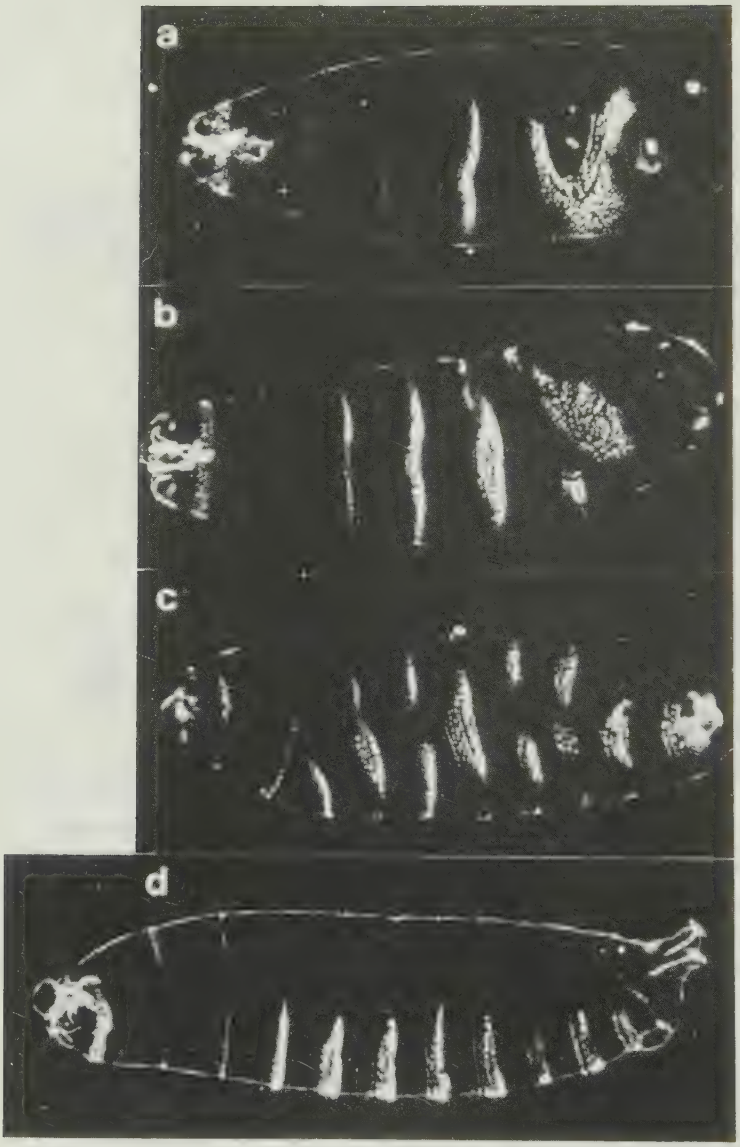
3.1. Allele und Phänotyp von *swa*

Mir standen zwei Punktallele und gegen Ende meiner Untersuchungen noch eine Defizienz zur Verfügung (Fig.122). Unterschiede in der allelischen Stärke drücken sich aus im Anteil der Embryonen, die (bei 18°C) früh absterben, wie auch in Häufigkeit und Ausmaß der abdominalen Defekte. Die abdominalen Segmentierungsstörungen beginnen im Bereich A6-A8, können aber auf fast das gesamte Abdomen übergreifen, so daß nur das A1 und ein oder zwei weitere fusionierende Zähnchenbänder übrigbleiben (Fig.123). Nach Anzahl der verbleibenden abdominalen Segmente wurden die Embryonen in vier Klassen eingeteilt. Nach Frequenz und Stärke der abdominalen Defekte ergibt sich folgende Serie (Fig.125):

Df(1)JF5 > 1497 > 1502

In der Größe des Kopfskeletts zeigen sich keine deutlichen allelischen Unterschiede. Es kann als H4- bis H3 klassifiziert werden. Bei 18°C treten auch Tiere mit stärker gestörten

Fig.123 *swa*^{14}/*swa*^{DfJF3}, Kutikula; a,b,c) 18°, d) 29°.



Kopfstrukturen auf (z.B.H2); im Extremfall sind keine Kopfstrukturen mehr vorhanden, und der Embryo schließt vorne mit dem Thorax ab (Fig.124). Löcher in der Kutikula mit pigmentierten Wundrändern legen die Vermutung nahe, daß derartige Phänotypen durch Zelltod zustande kommen und nicht direkt auf Veränderungen im Anlagenplan zurückzuführen sind. Gelegentlich werden Analplatten anterior dupliziert, häufiger finden sich anterior Malpighische Gefäße.

In Formelschreibweise ergibt sich:

swa^{1502} ≈ *swa*^{1497}: H(≤3/4)-3T-(variabel)A-Tel (18°C)

H3/4 -3T- (7,8)A -Tel (29°C)

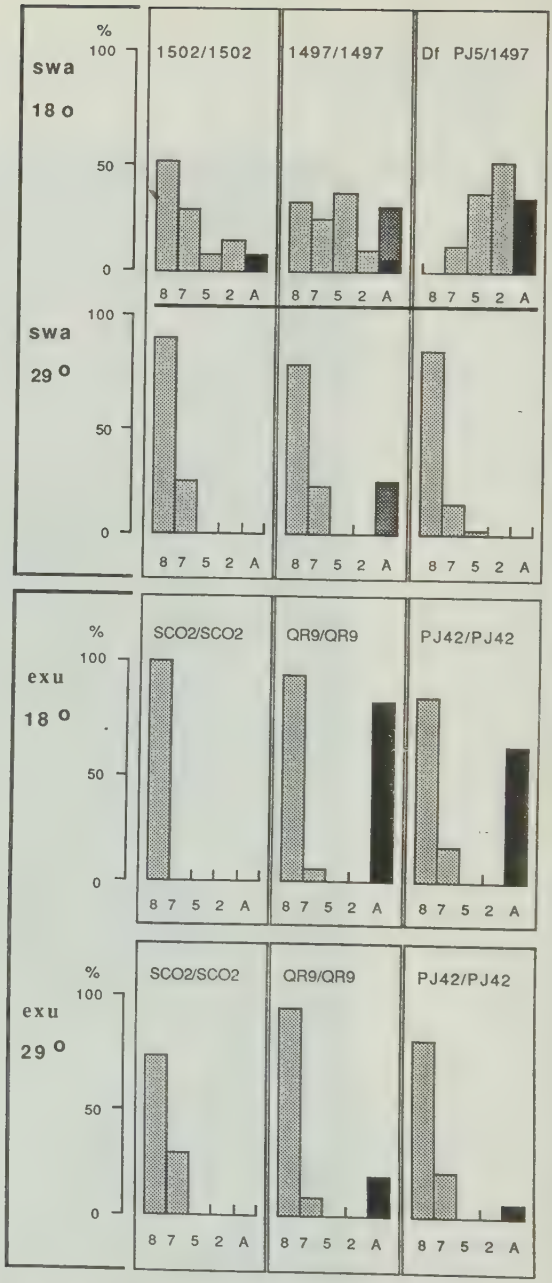
Fig.124 *swa*^{14}/*swa*^{14}, 18° C.

3.2. Temperatursensitive Periode von *swa* (Fig.120)

Wie bei *exu* sind auch bei *swa* die allelischen Unterschiede kleiner als die phänotypischen Unterschiede bei verschiedener Temperatur. Die stärkste Kombination *swa*^{14}/*Df(1)JF5* zeigt auch die stärksten Veränderungen mit der Temperatur. Die temperatursensitive Periode beginnt während der Oogenese etwa 1d vor Eiablage (-15h bei 18°C, -27h bei 29°C) und hält bis in die ersten Entwicklungsphasen nach der Eiablage an (etwa Stadium 2) (Fig.120). Die Stärke der Zellularisierungsdefekte ändert sich weitgehend

Fig.125 Vergleich von Kopf- und Abdomendefekten in *exu* und swa, allelische und temperaturabhängige Unterschiede.

In exu (QR,PJ) *fehlt häufig die Antenne (A), in* swa *finden sich häufiger Embryonen mit einer geringen Zahl von Abdominalsegmenten ($n_a \leq 7,5,2$ vDB^A's). Ob der Zusammenhang von schwachem Kopfdefekt und relativ häufigen Abdomendefekten in* exu^{sc} *im Vergleich zu den anderen* exu *Allelen signifikant ist, ist nicht ausreichend untersucht.*



parallel mit den Defekten in der Kutikula (nicht gezeigt).
Die sensitive Phase scheint länger anzudauern als in *exu*. Allerdings könnte die temperatursensitive Periode von *exu* vielleicht nur deshalb kürzer erscheinen, weil geringe phänotypische Veränderungen im Abdomen leichter zu registrieren sind als im Kopfbereich. Denkbar bleibt also, daß *beide, swa* und *exu*, noch eine Funktion nach der Eiablage haben.

3.3. Entwicklung von *swa* (Fig.112,121d,e,f)
Die charakteristischen Merkmale der Gastrulation sind wie in *exu*: Die Kopffalte ist nach vorne verschoben und am Vorderende formt sich ein duplizierter Hinterer Mitteldarm als Zellplatte aus. Auch die β-Galaktosidase Färbung des *ftz* Expressionsmusters führt zu grundsätzlich gleichartigen Ergebnissen wie in *exu*. Die hinteren Streifen sind eng zusammengezogen, und vorne ist das Muster im Vergleich zum *WT* überdehnt (Fig.112). Die Unterschiede zwischen *exu* und *swa* im Kutikulamuster finden sich aber bereits im Anlagenplan: *swa* zeigt eine stärkere Kompression der Streifen im hinteren Abdomen, und eine schwächere Expansion der Streifen in den anterioren Anlagen. Dadurch weiten sich die Abstände der Streifen von hinten nach vorne in kontinuierlicher Weise, während in *exu* eine eher duale Unterteilung Abdomen/anteriore Region zu finden war.

Fig.126 Chromosomale Aberrationen in der Region von *tsl*

Die Chromosomenregion um *ebony (e)* ist mit letalen Mutanten saturiert. Mit deren Hilfe läßt sich die relative Lage von Defizienzen dieser Region bestimmen (Mohler und Pardue 84). Der Vergleich von $Df(3R)e^{F4},tsl^{-}$ mit $Df(3R)e^{D7},tsl^{+}$ und $Df(3R)e^{R1},tsl^{+}$ verweist *tsl* in die Region 93F. Entsprechend sollten die beiden angegebenen Duplikationen *tsl* einschließen.

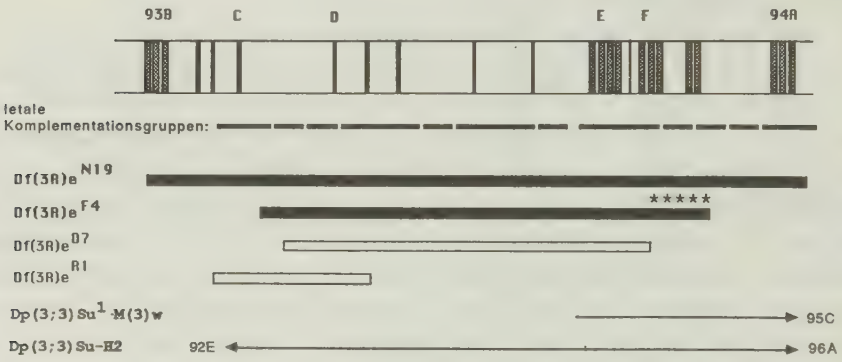


Fig.127 Allele von *torsolike (tsl)*

Allel (synonym)	Marker	h.v.[1]	Allel-stärke	Segment-fusionen[2]
135	th st cp in ri p^p st	++	*	+
035 *(035-6)*	ru st e ca e ca ri e ca	+++	***	+
691 *(691-4)*	ru st e ca e	++	****	+++
146	th st cp in ri p^p st	++	****	-
174	ru	+	(****)[3]	++
Df e^{F4} *Df* e^{N19}	e e		**** ****	

[1] : homozygot lebensfähig, Abschätzung der Vitalität
[2] : relative Häufigkeit ventral-medianer Segmentfusionen
[3] : *tsl* Phänotyp nur in transheterozygoten Kombinationen

III *TORSOLIKE* UND SEINE GRUPPE

Der embryonalletale kutikulare torso-Phänotyp zeigt einen Ausfall der anterioren und posterioren terminalen Strukturen. 5 (rein) maternale Loci sind bekannt, deren Mutationen diesen Phänotyp erzeugen. Ich habe mich in erster Linie mit dem Locus *torsolike* (*tsl*) beschäftigt.

1. Zytologie

torsolike (*tsl*) liegt zytologisch in 93F1-14 (Fig.126).

2. Phänotyp

2.1. *torsolike (tsl)* (Fig.127,128)

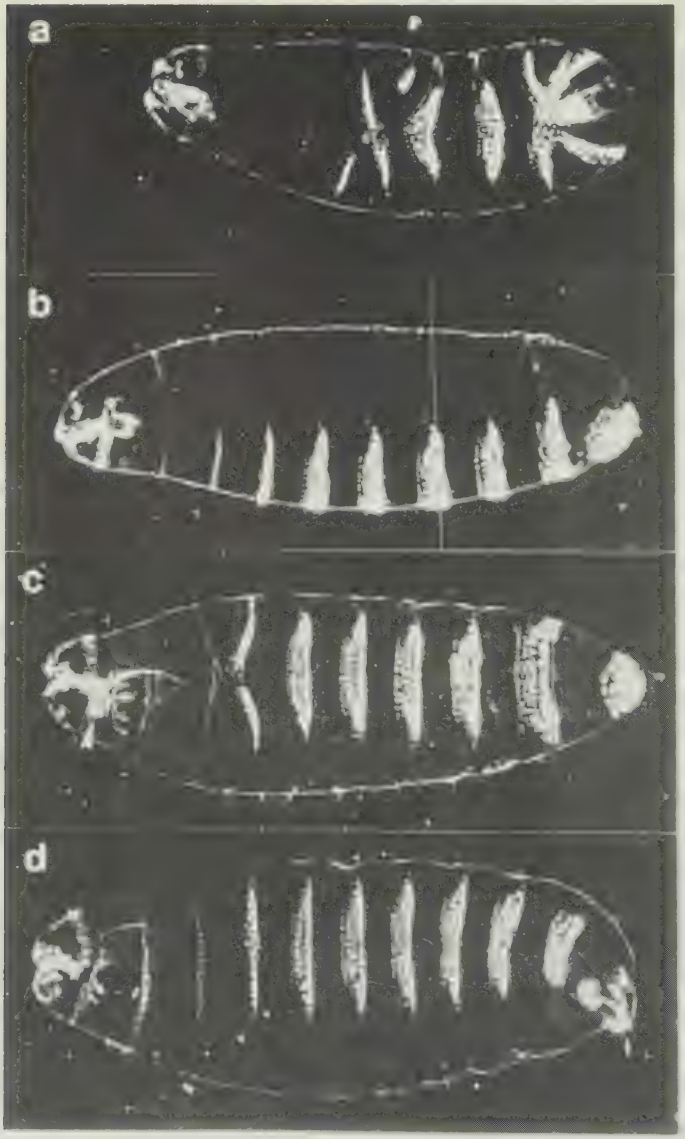
Starke Allele (tsl^{146}, tsl^{691}, tsl^{035}) zeigen homozygot eine Reduktion der anterioren Kopfregion (Typ H4$^-$), die dem Phänotyp von *exu* bei 29°C entspricht (labrale Teile fehlend, akronale Teile und posteriorer Pharynxbereich verkleinert). Am Hinterende fehlen das Telson, und meist einige wenige posteriore vDB's, so daß der Embryo nur mehr 7 oder 6 abdominale vDB's besitzt (nur in Einzelfällen noch weniger). Die Ausfallzone in der dorsalen Region ist häufig größer als auf der ventralen Seite.

Die Grenze der Ausfallregion kann in einem vDB oder in der nackten ventralen Region eines Segments liegen. Falls die posteriore Grenze des Embryos durch ein vDB verläuft, fehlt dessen verbleibendem Rest häufig die dorsale Überdachung. Das vDB rückt an die posteriore Spitze des Embryos, verliert seine trapezoide Gestalt und bildet ein ellipsoides Feld von Zähnchen aus. Die übrigen Segmente am posterioren Ende sind oft vergrößert. Diese Dehnung der Segmente nimmt nach vorne hin allmählich ab, kann aber deutlich bis zum A4 sichtbar bleiben. Die Vergrößerung scheint vDB's und nackte Kutikula gleich zu betreffen. In den Zähnchenfeldern sind zusätzliche Reihen zu erkennen. Bei schwacher Expansion treten diese am Hinterrand des Segments auf, bei starker Expansion werden zusätzliche Zähnchen auch zwischen den Reihen 1 und 4 eingefügt.

Ein weiterer Defekt findet sich besonders häufig bei dem Allel tsl^{691}, selten in tsl^{146}: Die letzten 2-3 vDB's fusionieren in der medianen Mittellinie, so daß ihre rechten und linken Hälften sternförmig auf ein Loch in der Kutikula zulaufen (Fig.128a). Gleichartige Fusionen können zusätzlich im anterioren Abdominal-

Fig.128 *tsl*, 18°, Kutikula

a) tsl^{691}/tsl^{691}, ventrale Segmentfusionen
b) tsl^{691}/tsl^{691}, Phänotyp wie er charakteristisch für tsl^{146} ist.
c,d) tsl^{135}/tsl^{135}, schwache Phänotypen.
Pfeilspitze = Dorsale Brücke Pfeil = Pulzkörper



bereich oder sogar im Thorax auftreten. Dieser Unterschied zwischen *tsl*^{146} und *tsl*^{691} bleibt auch bestehen, wenn beide Allele in trans über eine Defizienz gebracht werden.

Auf der Dorsalseite, am Vorderrand des letzten Segments treten Störungen auf: Meist wird, abgesetzt durch Falten, kurz hinter dem Segmentvorderrand ein oft konzentrisches Extrafeld von Dentikeln gebildet, häufig nur aus dicken dorsalen Haaren bestehend, wie sie typisch für den anterioren Rand eines dorsalen Feldes sind. Das Feld dünner Haare ist oft durch nackte Kutikula davon abgesetzt, oder es ist selbst in eine anteriore und eine posteriore Portion aufgeteilt. Vielleicht sind die beiden letzten Segmente dorsal derart miteinander verschmolzen, daß der anteriore Teil des letzten Segments in den Bereich des vorletzten eingewandert ist. Die Behauptung, daß der Ausfall dorsal stärker ist als ventral, bliebe dann nur im deskriptiven Sinn richtig.

Hohe Temperatur (29°C) schwächt den Defekt am posterioren Ende ab; die Zahl an Abdominalsegmenten steigt von etwa 6-7 (18°C) auf 7-8 (29°C). Für eine gleichartige Verringerung der abdominalen Segmentzahl wurde in *tor* eine phänokritische Phase nach der Eiablage bestimmt (Schüpbach und Wieschaus 86). *tsl*^{035}/*tsl*^{035} Weibchen produzieren bei 29°C manchmal Embryonen mit Resten von Filzkörpern; dieses Allel erscheint daher als das Schwächste in dieser Dreiergruppe:

$$691 \approx 146 > 035$$

Das Allel *tsl*^{174} führt homozygot zu Embryonen, die frühzeitig absterben und keine Kutikula ausdifferenzieren. In trans zu Defizienzen verhält es sich aber etwa wie das Allel *tsl*^{691} (d.h. normaler starker Phänotyp mit der Neigung, median Kutikula-Löcher und Segmentfusionen zu erzeugen). Entweder es befindet sich eine zweite maternale Mutation auf dem Chromosom oder die Mutation in *tsl* verursacht neben dem Funktionsausfall einen neomorphen Effekt.

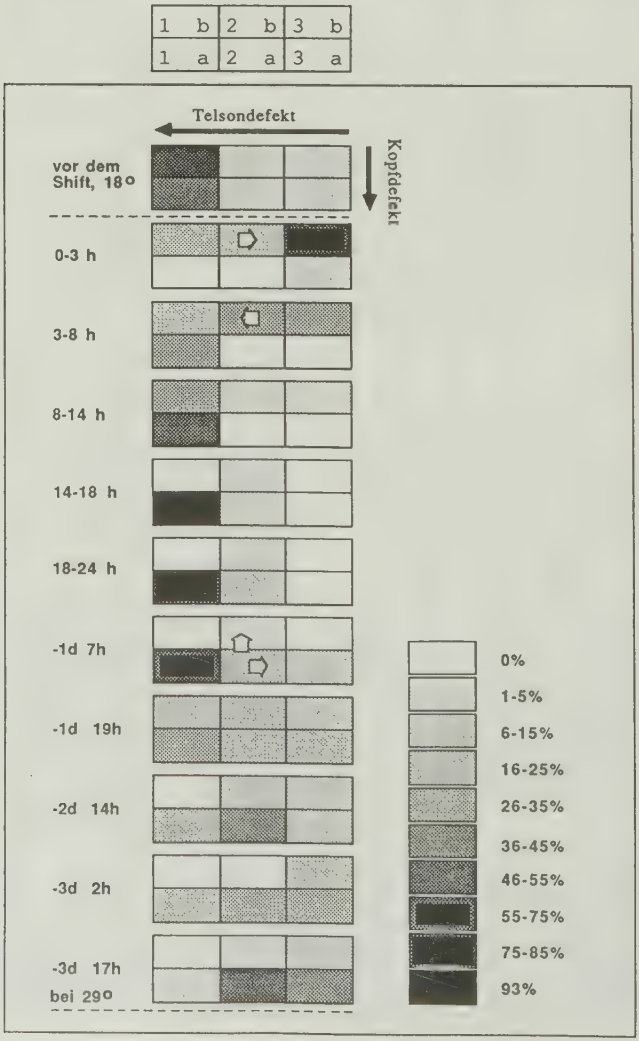
tsl^{135} ist bei weitem das schwächste von allen bekannten Allelen (Fig.128c,d). Sein Phänotyp verändert sich in komplizierter Weise mit der Temperatur:

2.2. Temperatursensivität von *tsl*^{135}

Bei *tsl*^{135} Embryonen kann sowohl das Hinterende wie auch der Kopf vollkommen normal ausgeprägt sein. Bei 18°C sind die Kopfdefekte relativ schwach, das Telson tendiert eher bei 29°C zur Normali-

Fig.129 Phänotypische Veränderungen von *tsl*^{135}/*tsl*^{135} Embryonen nach Shift der Weibchen von 18°-->29° (Zeitpunkt 0h).

Die Embryonen der Gelege, die nach dem Shift der Weibchen abgesammelt werden, werden in 6 phänotypische Klassen eingeteilt. Die Schraffuren in jedem der 6-teiligen Kästen zeigen die Häufigkeit jeder dieser Klassen an.
Jeder Embryo ist nach Kopf- und Telsondefekt zu klassifizieren. Die Klassen werden nach folgenden Kriterien gebildet:
Telsondefekt: (1) fk, sp fehlen, (2) sp fehlen, (3) beides vorhanden
Kopfdefekt: (a) Teile von Labrum und dorsaler Brücke fehlen, (b) vorhanden
fk = Filzkörper, sp = Spirakeldornen.
Tiere mit schwachem Kopfdefekt (b) werden in die obere Zeile eingeordnet, Tiere mit schwachem Telsondefekt (3) in die rechte Spalte.



tät. Der Shift von *tsl*^{135}/*tsl*^{135} Weibchen von 18°C nach 29°C löst eine komplizierte Folge phänotypischer Veränderungen aus (Fig.129). Zuerst erfolgt eine generelle (anteriore & posteriore) Normalisierung des Phänotyps, dann eine generelle Verstärkung der Defekte. Die Embryonen aus Eigelegen in den ersten Stunden nach dem Shift zeigen diese relativ abrupten Übergänge. Nach 2-3 Tagen beginnt sich allmählich ein stabiler 29° Phänotyp einzustellen. Danach beginnen die Weibchen die Eiablage allmählich einzustellen, so daß Shifts in umgekehrter Richtung nach 18°C keine auswertbaren Ergebnisse mehr erbrachten.

2.3. Andere Gene mit identischem Phänotyp

Außer *tsl* sind vier weitere maternale Gene bekannt, die zum torso Phänotyp mutieren können [*torso (tor)*, *trunk* (trk) (Schüpbach und Wieschaus 86); *fs(1)Nasrat (N)* (Degelmann et al.86); *fs(1)pole hole (ph)* (Perrimon et al.86)]. Der amorphe Phänotyp der beiden letztgenannten erstchromosomalen Gene besteht jedoch in der Produktion von kollabierten, nicht entwicklungsfähigen Eiern, und nur die Allele *N*^{211} und *ph*^{1901} produzieren homozygot oder in trans über Defizienzen den torso Phänotyp. Die hier verwendeten Mutanten der genannten maternalen Gene (*tor*^{WK}, *tor*^{PM}, *trk*^{P1}, *fs(1)N*^{211}, *fs(1)ph*^{1901}) unterscheiden sich im Kutikulaphänotyp weniger von *tsl* als verschiedene *tsl* Allele untereinander; sie entsprechen weitgehend dem starken *tsl* Phänotyp ohne starke Neigung zu medianen Segmentfusionen (*tsl*^{146}).

3. Entwicklung

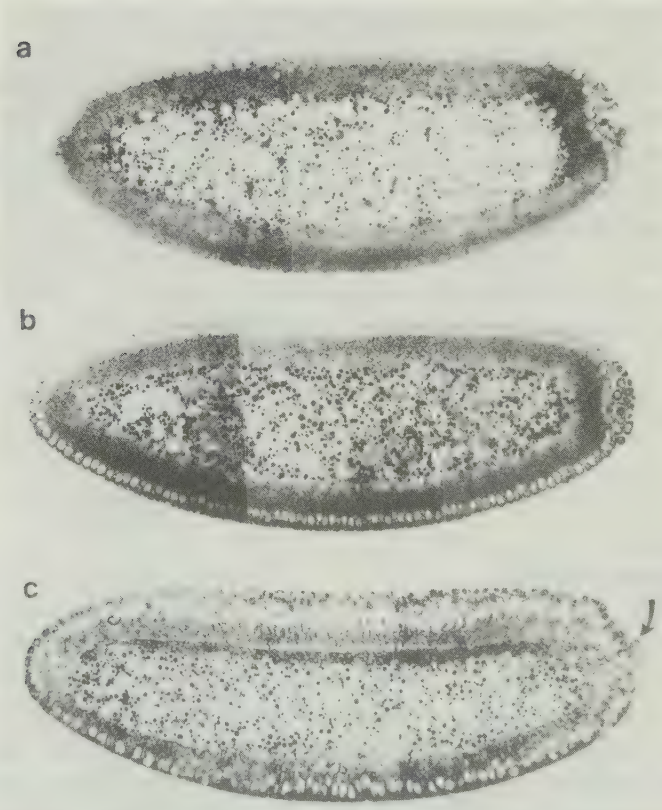
3.1. "Pole hole" Effekt

Alle Vertreter der torso Gruppe zeigen Zellularisierungsdefekte im Blastoderm am hinteren Pol. Bei Lebendbeobachtung in *tsl*^{146}/*tsl*^{146} ist zu sehen, daß sich unterhalb der Polzellen eine Schicht von (somatischen?) Zellkernen anordnet wie im *WT*. Wenn aber die umliegenden Zellkerne beginnen, zellularisiert zu werden, verschwindet die innere Schicht, bzw. die Grenze zwischen der inneren Schicht und den äußeren Polzellen wird unsichtbar. Bis zur Gastrulation bildet sich dennoch in den meisten Fällen ein geschlossenes kolumnäres Blastoderm aus. Histologische Schnitte durch *tsl*^{035}/*tsl*^{035} bestätigen, daß die Anordnung im synzytialen Blastoderm ziemlich normal aussieht (Fig.130)(ich habe keine Wild*typschnitte dieses Alters zur Verfügung; viel-

Fig.130 "Pole hole" in *tsl*^{035}

a,b) Synzytiales Blastoderm (S4); unterhalb der Polzellen bildet sich eine normale Blastodermschicht.

c) Embryo kurz vor der Gastrulation (S6); die Polzellen scheinen in die Schicht der somatischen Blastodermzellen einzudringen.



leicht ist die konkave Eindellung der somatischen Zellschicht ein mutanter Charakter). Während der Zellularisierung scheinen die Polzellen in den Blastodermverband einzudringen; möglich, daß einige der somatischen Zellkerne nicht zellularisiert werden und von den Polzellen ununterscheidbar werden.
Auch in *torso*, *trunk* und *fs(1)N²¹¹* wurden die posterioren Zellularisierungsdefekte in histologischen Schnitten untersucht. Die Beschreibungen unterscheiden sich etwas von der meinen für *tsl⁰³⁵*: *tor,trk*,(Schüpbach und Wieschaus 86): 20±10 somatische Zellkerne werden von der posterioren Spitze ins Innere des Dotters verlagert und beginnen dort zu degenerieren (während sich über ihnen das Blastoderm wieder schließt?).
fs(1)N²¹¹,(Degelmann et al.86): In *fs(1)N²¹¹* bleiben die posterioren somatischen Zellkerne zunächst an der Peripherie liegen, nehmen aber nicht Teil an Kernelongation und Zellularisierung und werden dann am Ende der Blastodermbildung in den Dotter nach innen abgeschoben. Elektronenmikroskopie zeigte, daß ein hoher Anteil posteriorer Polgranula mit dem "somatischen" Blastoderm verbunden bleibt, und die Autoren haben den Eindruck, daß in einer zweiten Welle eine zweite Gruppe von Polzellen gebildet wird. Wenn die Formierung der Polgranula in einer Doppelmutante mit *tudor*, einer Mutante der *oskar*-Gruppe, verhindert wird, tritt die posteriore Zellularisierungsstörung nicht mehr auf, während der kutikulare torso Phänotyp unbeeinflußt bleibt.
Die Zellularisierungsdefekte erscheinen in *tsl* schwächer als in *fs(1)N²¹¹* und *tor*; ob der Unterschied autoren-,locus- oder allelspezifisch ist, ist nicht entschieden.

3.2. Gastrula, Anlagenplan (*tsl* & *tor*)

Die Ähnlichkeit der Phänotypen von *tsl* und *tor* spiegelt sich bereits im Gastrulationsablauf wieder (Fig.131, 132a, Schüpbach und Wieschaus 86). In beiden Mutanten fehlt die Invagination von Proktodäum & Hinterem Mitteldarm; stattdessen ist der Bildungsbereich der Ventralfurche bis an den hinteren Pol des Embryos ausgedehnt, so daß der posteriore Ausfall in der Mutante auf eine Anlagenplanveränderung mit Ausdehnung mittlerer Bereiche nach hinten zurückgeführt werden kann. Am vorderen Ende weist eine Verschiebung von Kopffalte und Vorderem Mitteldarm auf eine Anlagenverschiebung nach anterior hin. Nur gelegentlich und bisher allein in *tsl⁶⁹¹* war eine dorsalisierte Kopffalte zu beobach-

Fig.131 Gastrulation von *tor* und *tsl*, Lebendbeobachtung

a-f) *tor*^{WK34}, Stadien: S4a, S4c, S5a, S5c, S6, S7/8.
Die Entwicklung vor der Gastrulation (a-d) erscheint normal; auch am posterioren Pol sind kaum Defekte erkennbar. In der Gastrulation (e,f) ist die Ventralfurche nach hinten verlängert, und die Kopffalte (Pfeilspitzen) nach vorne verschoben (69% EL statt ≈65% EL in *WT*).

g,h) *tsl*^{691}, Gastrulation (S6).
tsl zeigt dieselben Merkmale wie *tor*; der Embryo in (g) weist als zusätzliche Besonderheit eine dorsalisierte Kopffalte auf.

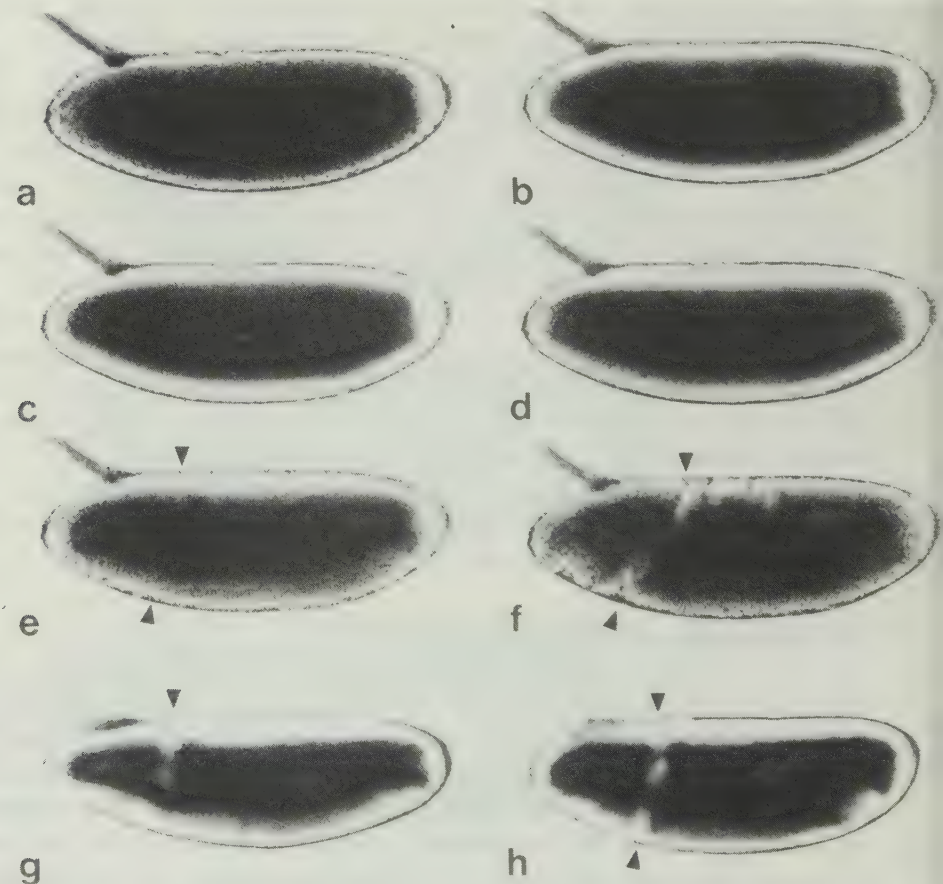


Fig.132 *tsl^{035}/tsl^{035}*, (Raumtemperatur), histologische Schnitte

a) Stadium 7; Invagination des Vorderen Mitteldarms (Pfeil); dahinter ist über die ganze Länge des Embryos Mesoderm ins Innere invaginiert worden.
b) Stadium ≈9; die Polzellen sind nicht invaginiert, der Keimstreif streckt sich nicht aus, stattdessen entstehen ventrale Einfaltungen; die Morphologie wird vorübergehend unübersichtlich.
c) Stadium 13; der Dotter wird von einzelnen Zellen umschlossen, aber es bildet sich kein typisches Mitteldarmepithel. Das invaginierte Stomodäum ist verkleinert. Terminal finden sich Anzeichen von Zelltod.
d) Stadium 16/17; das Gehirn erscheint etws verkleinert (vgl. Campos-Ortega und Hartenstein 85, Seite 82). Das Stomodäum hat Verbindung zum Dottersack, ohne daß ein normaler Proventrikulus ausgebildet ist (außerhalb der Schnittebene).

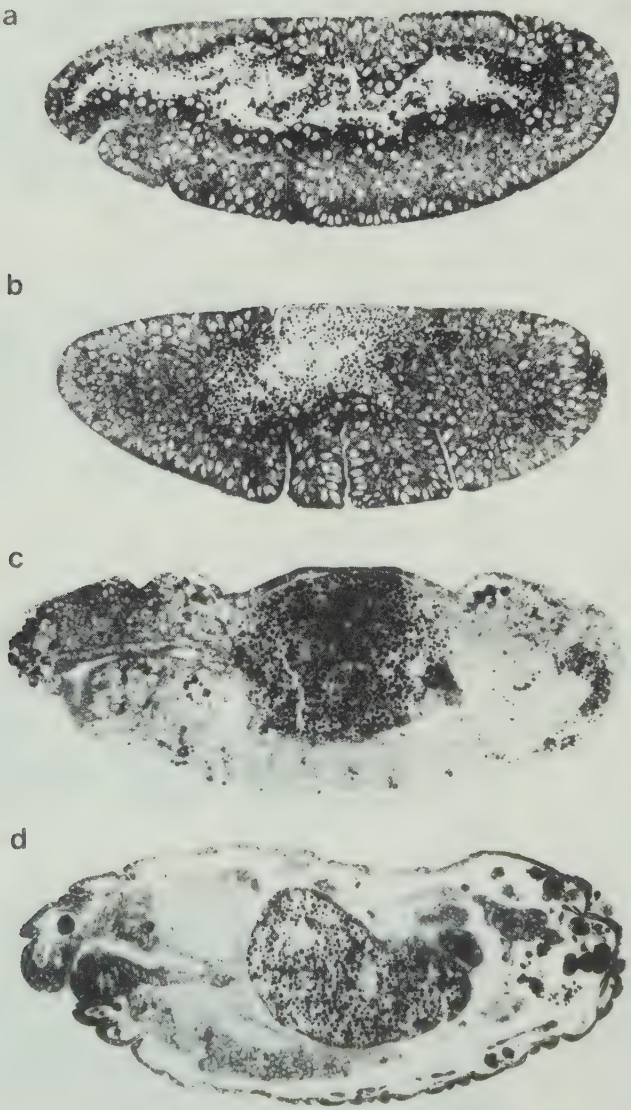


Fig.133 Expressionsmuster von *ftz* in tor^{WK}/tor^{WK}

a) Der letzte in *tor* vorhandene *ftz* Streifen (Nr.6,PS12) erscheint verspätet und ist während der Gastrulation noch nicht sichtbar (Ich kann nicht beurteilen, ob das immer so ist). Die Streifen nehmen nach vorn an Breite und Intensität ab.
(Pfeile: Anteriorer Mitteldarm, nach posterior verlängerte Ventralfurche)
b) Der Keimstreif streckt sich nicht aus und liegt gewunden im Ei.
(Pfeile: Amnioserosa)
c) Gelegentlich streckt sich auch in *tor* der Keimstreif aus.
d) Keimstreif verkürzt, Orthosegmentfalten. Die Region hinter A4/5 ist nicht normal segmentiert.

ten (Fig.131g). β-Galaktosidase Färbungen von *tor*^{WK34} (Fig.133) zeigen, daß der letzte *ftz*-Streifen (PS14) verschwunden ist, und der vorletzte an den hinteren Pol gerückt ist. Die Färbung nimmt in der Intensität von den hinteren zu den vorderen Streifen hin ab - ähnlich wie die Segmentbreite in der Kutikula. Ähnliche Beschreibungen von Anlagenplanveränderungen liegen für *fs(1)N*^{211} und *tor* bereits vor (Degelmann et.al 86, Hiromi pers. Mittlg.).

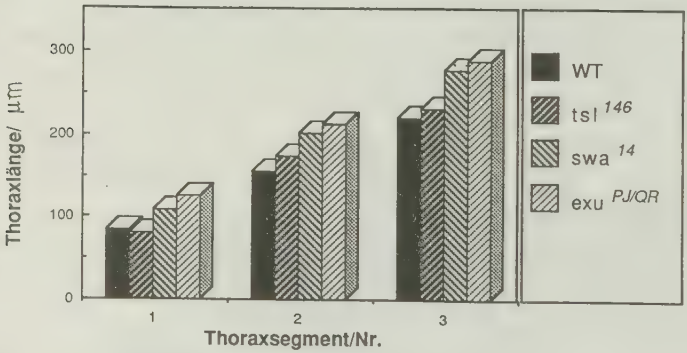
3.3. Entwicklung nach der Gastrulation (Fig.132,133)

tsl und *tor* Embryonen strecken meist nicht den Keimstreif aus. Häufig bilden sie stattdessen eine variable Zahl (≈2-3) von Querfalten auf der Ventralseite aus; später liegt der Embryo häufig um seine Achse getwistet im Ei, so daß seine Strukturen nur schwer zu identifizieren sind. Im Stadium des zurückgezogenen Keimstreifs (>Stadium 12) wird jedoch die normale gestreckte Gestalt wieder erreicht. Regelmäßige segmentale Furchen - wie im Wildtyp - kennzeichnen dieses Stadium; im hinteren Bereich des Abdomens (≈A5-A7) fehlen jedoch diese morphologischen Anzeichen von Segmentierung (Fig.133d).

Während der Gastrulation ist die Invagination des anterioren Mitteldarms zu sehen, doch in älteren Embryonen fehlt das Mitteldarmgewebe weitgehend (Fig.132c).

Ein Ösophagus (=Differenzierungsprodukt der stomodäalen Anlage) findet sich, wenn auch in verkleinerter Ausführung, in Schnitten von S13 Embryonen und auch in Kutikulapräparaten. Die Invagination des Stomodäums (S10) konnte ich dagegen nicht beobachten. Auf einem Schnitt war dorsal am Kopf eine nicht eindeutig identifizierbare Einstülpung zu sehen; vielleicht wird das Stomodäum von dorsal aus invaginiert.

Fig.134 Länge der Thorax Region; abgemessen an Kutikula Präparaten.



1. Keimbahnabhängigkeit

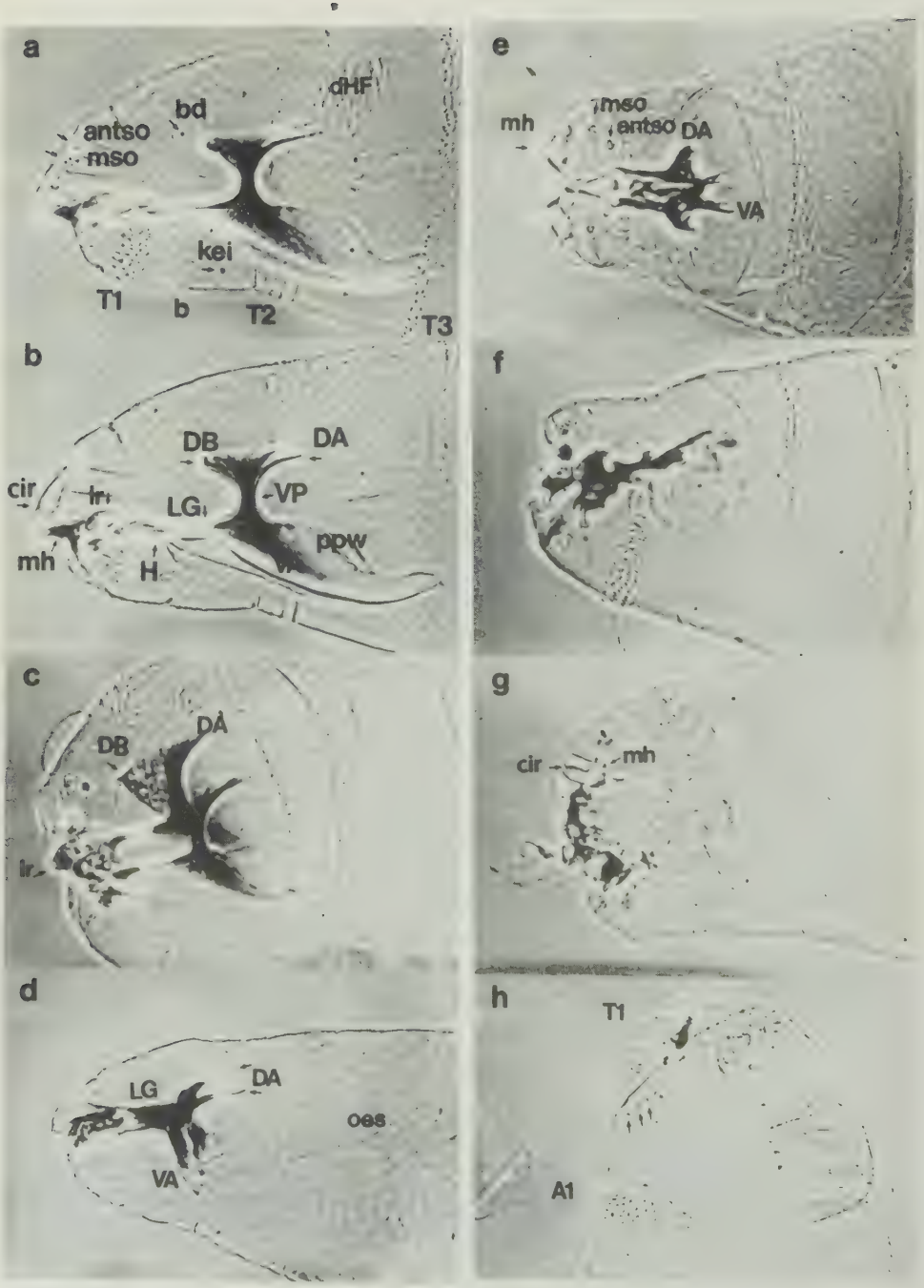
Um zu überprüfen, ob die maternalen Phänotypen von der Genexpression in der Keimbahn abhängen, wurden homozygote Keimbahnklone der Mutanten hergestellt. Mit Ausnahme von *tsl* produzierten in allen untersuchten Fällen die somatisch normalen Fliegen mit den mutanten Oogonien Embryonen mit unverändertem mutanten Phänotyp. Die Klone wurden auf zweierlei Weise, aber beide Male mithilfe der dominanten, autonom keimbahnletalen Mutante ovo^{D1} (Komitopoulou 83, Busson 83) hergestellt. Im Fall von $fs(1)N^{211}$ und $fs(1)ph^{1901}$ wurden heterozygote Tieren $(fs(1)N^{211}/ovo^{D1}$ und $fs(1)N^{211}/ovo^{D1})$ im ersten Larvenstadium Röntgenstrahlen (z.T.1000 Röntgen, z.T 3300 Röntgen) ausgesetzt. 11 $fs(1)ph^{1901}$ und 7 $fs(1)N^{211}$ Weibchen mit induzierten Keimbahnklonen wurden gefunden (siehe auch Perrimon und Gans 83).

Keimbahnklone von bcd^{E1}/bcd^{E1} (14 Tiere) und *tsl* wurden durch Polzelltransplantation in ovo^{D1} Wirte erzeugt. Im Fall von *tsl* wurden 2 Genotypen {tsl^{035}/tsl^{035} (9 Fälle) und tsl^{035}/tsl^{146} (10 Fälle)} getestet; die Weibchen produzierten jeweils phänotypisch normale und lebensfähige Embryonen. Sie wurden rückgekreuzt mit *tsl* Männchchen, so daß in den Nachkommen die Herkunft von homozygoten bzw. transheterozygoten Polzellen nachträglich bestätigt werden konnte.

exu, *tor*, *trunk* (Schüpbach und Wieschaus 86b) und *swa* (Perrimon und Gans 83) sind keimbahnabhängig; dasselbe gilt für oskar, pumilio (Lehmann 1985), und alle getesteten dorsalisierenden und ventralisierenden maternalen Mutanten (Wieschaus et al. 81, Schüpbach und Wieschaus 86b, David Marcey, Siegfried Roth, unveröffentlicht). *tsl* unterscheidet sich in dieser Hinsicht also von den meisten anderen getesten maternalen Mutanten, die den embryonalen Anlagenplan beeinflussen. Möglicherweise wird es sowohl in der Keimbahn als auch im Soma exprimiert, eine Situation wie sie bei der Mutante *dicephalic* gefunden worden ist (Frey et al.86).

2. Anlagenplan und Größe von Segmenten in der Kutikula

Die absolute Länge der Thoraxsegmente in Kutikulapräparaten wurde ausgemessen. Je größer die blastodermale Thoraxanlage in einer Mutante ist, desto größere Werte werden auch in der Kutikula


a
bd
dHF
antso
mso
kei
T1
b
T2
T3
b
DB
DA
cir
ir
LG
VP
ppw
mh
H
c
DB
DA
ir
d
LG
DA
oes
VA
e
mh
mso
antso
DA
VA
f
g
cir
mh
h
T1
A1

gefunden (Fig.134):

exu > *swa* >> *tsl* > *WT*

Diese Unterschiede sind aber weit geringer als die im Blastoderm gefundenen Anlageplanveränderungen. Vergrößerte Anlagen werden also bis zur Entwicklung der Kutikula nur teilweise auf normale Größe abreguliert. In *oskar* Embryonen stehen einer enormen Vergrößerung des Thorax (nicht gezeigt) in der Kutikula nur geringfügige Anlagenplanveränderungen gegenüber. Von vergrößerten Kutikulastrukturen läßt sich daher nicht notwendig auf eine Anlagenplanveränderung zurückschließen.

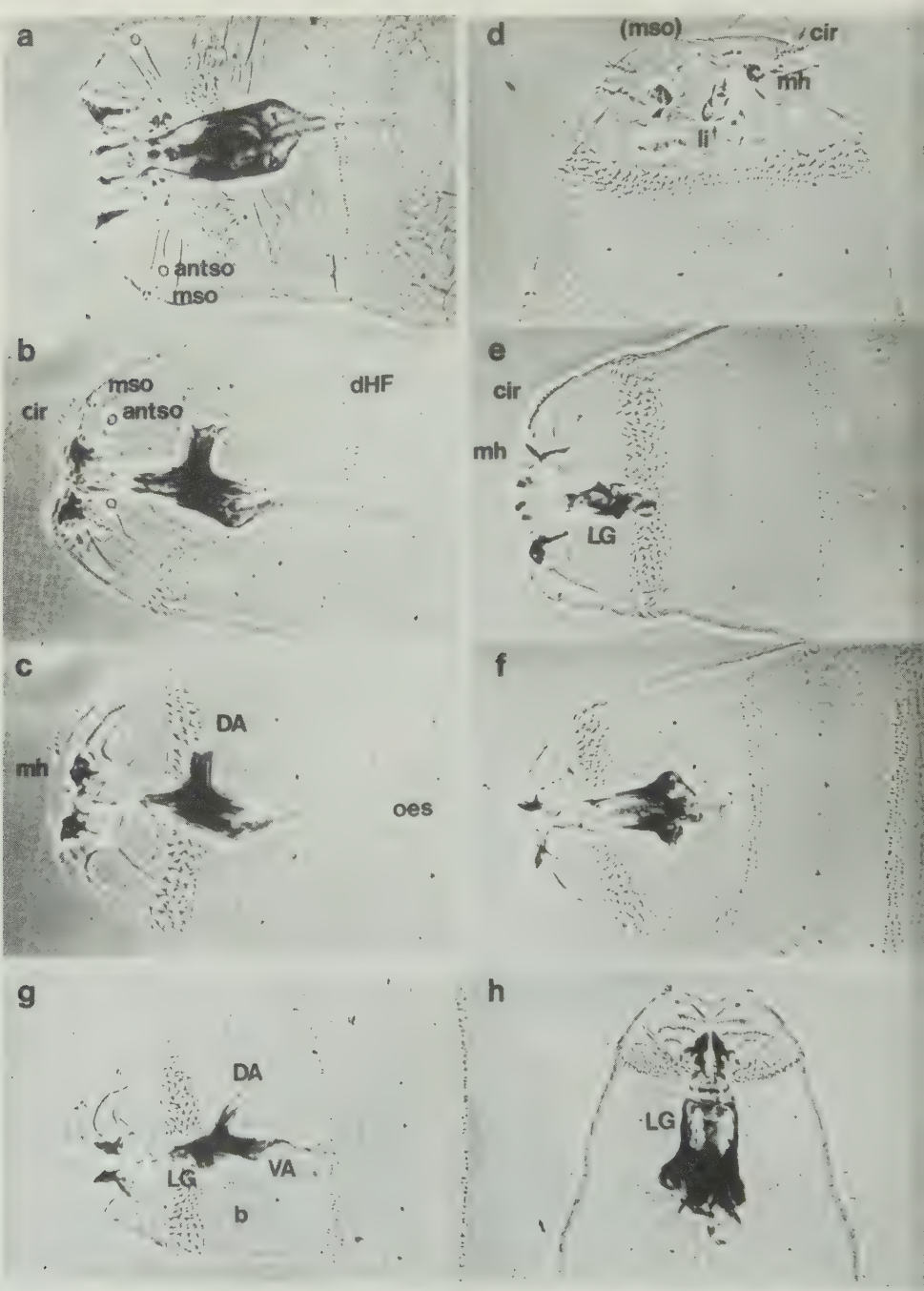
Fig.135 Kopfdefekte in *bcd*

a,b) H6: Wildtyp; laterale Ansicht, parasagittaler (a) und sagittaler Focus.
c) H5: bcd^{E5}/bcd^{E5}; lateral.
Das Kopfskelett ist deformiert, aber - soweit dies beurteilt werden kann - sind alle Strukturen vorhanden.
d) H4+: bcd^{111}/bcd^{111}; lateral.
lr und DB fehlen; der Skleritfortsatz VP&DA ist noch lang ausgestreckt.
e) H4: bcd^{2-13}/bcd^{E4}; dorsal.
f) H3/4: bcd^{E3}/bcd^{E3}, 18°C; lateral.
Die Bestandteile des Cephalopharyngealskeletts sind kaum noch zu identifizieren.
g) H2/3: bcd^{E3}/bcd^{E3}, 18°C; dorsal.
Die Skeletteile werden nicht ins Innere des Embryos eingezogen; das Cephalopharyngealskelett beginnt sich in einzelne sklerotisierte Bruchstücke aufzulösen.
e) H1: bcd^{E3}/bcd^{E3}, 25°C; lateral.
In diesem Embryo ist auch die Thoraxregion reduziert. Die noch vorhandenen Dentikelfelder gehören zum vDB^{T1} und zum Bart (b) von T1. Dahinter finden sich jedoch 6 Keilin's Organe (halbseitig 3 Stück - kleine Pfeile). Die Thoraxregion setzt sich also noch aus Anteilen aller drei Segmente zusammen.

antso	Antennales Sinnesorgan	kei	Keilin's Organ
b	Bart (spezielles Dentikelfeld in T1)	lr	Labrales Sklerit
		LG	Lateralgräte
bd	Black Dot (Sinnesorgan)	li	vermutlich labiale Strukturen (hypostomales Sklerit)
cir	Cirri		
DA	Dorsalarm	mh	Mundhaken
DB	Dorsale Brücke	mso	Maxillares Sinnesorgan
dHF	dorsales Härchenfeld (hier angezeigt in T2)	oes	Ösophagus
		ppw	Posteriore Pharynxwand
H	Querbalken des H-Stücks (mit Speicheldrüsenausgang)	VA	Ventralarm
		VP	Vertikalplatte

Fig.136 Kopfdefekte in *tsl*, *exu* und *swa* (siehe Legende Fig.135)

a,b,c) *tsl*^{146}/*tsl*^{146}, H4; a: dorsal, b: dorsal, c:ventral
d,e,f) *exu*^{PJ}/*exu*^{PJ}; *H2, H3, H3/4, alle von 18°C, ventrale Ansicht.*
g,h) swa^{14}/*swa*^{14}; *H4.*



3. Vergleich der Kopfdefekte in *bcd, exu, swa* und *tsl*

Schwache Defekte in *bcd* äußern sich nicht zuerst im Ausfall bestimmter (identifizierbarer) Strukturen, sondern in einer Verformung des Kopfskeletts (H5)(Fig135c). Dies gilt besonders für bcd^{E5}, dessen Kopfdefekte an das "dorsal pouch syndrom" (Jürgens et al.86) erinnern, welches in weiten Bereichen der Kopfregion durch Bestrahlung ausgelöst werden kann. H4 Phänotypen, vergleichbar denen in *exu* und *tsl*, finden sich bei *bcd* am ehesten in Kombinationen mit bcd^{2-13} (Fig.135e), während in den übrigen Kombinationen bei Ausfall von Labrum und dorsaler Brücke auch andere Teile des Kopfskeletts meist stark mitbetroffen sind (Typ H4/3)(Fig.135f). Darüberhinaus sind in den *bcd* Allelen die Kopfdefekte häufiger von Kopfinvolutionsstörungen begleitet.

tsl, exu und *swa* zeigen ein scharf lokalisiertes Defektmuster, so daß die Kopfdefekte von starken *tsl* Allelen (Fig.136a-c), schwachen *exu* Phänotypen (29°C) und in *swa* Embryonen (Fig.136g,h) einander sehr ähnlich sind (H4). Bei starker Kopfreduktion in *exu* (18°, Fig.136d) sind die Strukturen des Cephalopharyngealskeletts (akronal und mandibular) weitgehend verschwunden, während die maxillaren Strukturen deutlich erhalten sind. In *bcd* dagegen werden die maxillaren Strukturen parallel mit dem Cephalopharyngealskelett reduziert (deutlich verkleinerte Cirrireihen in Fig.135g).

In bcd^{W} und exu^{SC} ist der dorsale Teil des Cephalopharyngealskeletts (VP&DA) oft noch stark in die Länge gezogen, während die Ventralarme stark verkürzt sind. In *tsl* dagegen sind die Ventralarme nie deutlich kürzer als VP&DA. Entweder kommen diese Unterschiede sekundär zustande, z.B. bedingt durch die Anwesenheit unterschiedlicher nicht-kutikularer Gewebe am Vorderende von *tsl* und *exu* (Vorderer und Hinterer Mitteldarm), oder die Funktion von *tsl* ist im Vergleich zu *exu* und *bcd* auf weiter dorsal gelegene Region ausgerichtet. Ähnlich interpretieren Schüpbach & Wieschaus (86) phänotypische Unterschiede zwischen *tor* und *exu*.

Fig.201 *tor^{RL3}/tor^{RL3}; tsl^{1035}/tsl^{1035}*, Raumtemperatur

Die Gelege sind sehr heterogen. Das Telson ist stets vorhanden (a,b), das Labrum nur selten (a); H6/5-(3T)-7A-tel, H4-(2-3T)-2A-Tel.

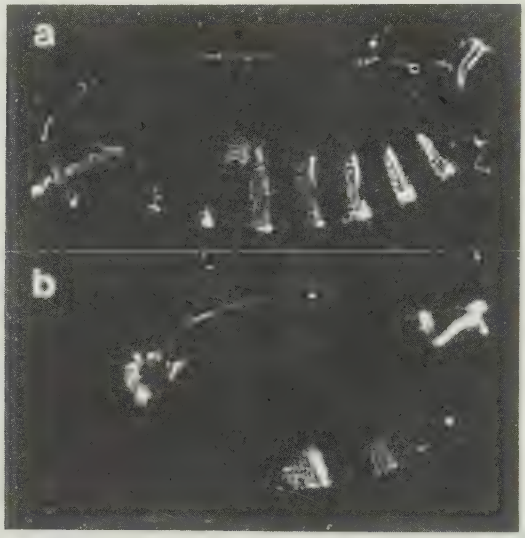
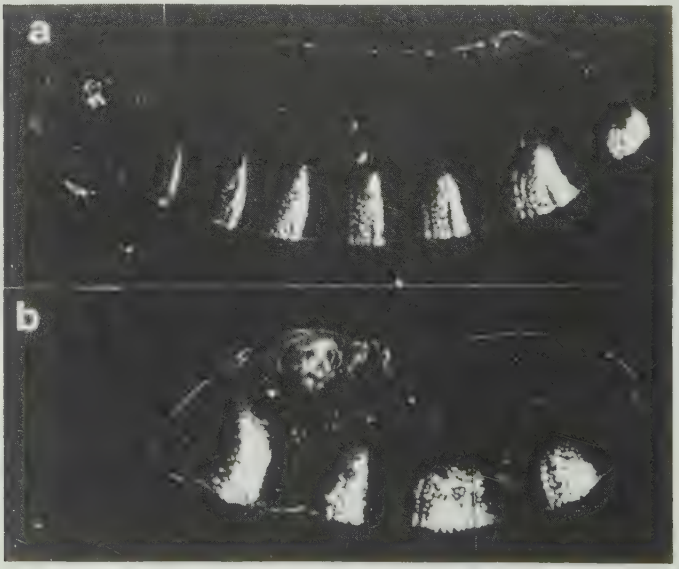


Fig.202 Kombination *bcd-tsl*

a) *bcd^{E5}/bcd^{E1}; tsl^{1035}/tsl^{1035}* 2T-7A

b) *bcd^{E1}/bcd^{E1}; tsl^{1035}/tsl^{1035}* 4A



C GENETISCHE KOMBINATIONEN

I KOMBINATIONEN ZWISCHEN MATERNALEN,REZESSIVEN MUTANTEN

In diesem Abschnitt treten neben *oskar (osk, Fig.307c)*, Mutanten von drei weiteren maternalen Genen auf, in denen posteriores Polplasma und Abdomen fehlen: *vasa (vas)*, *staufen (stau)* (Schüpbach und Wieschaus 86) und *tudor (tud)* (Boswell und Mahowald 85). Die Abdomendefekte in *tudor* sind meist etwas schwächer als in *oskar* oder *vasa*. Einen qualitativ verschiedenen Phänotyp aber zeigt *staufen*. In *stau* Embryonen tritt zusätzlich zum Abdomendefekt ein Kopfdefekt auf, und in gastrulierenden Embryonen ist eine nach vorne verschobene Kopffalte zu sehen. Das von mir am häufigsten verwendete Allel $stau^{BL}$ (ebenso wie $stau^{G4}$, siehe Teil D) zeigt einen oft nur unvollständigen Ausfall des Abdomens, und auch der Kopfdefekt ist nicht in allen Tieren zu sehen. Da mittlerweile stärkere Allele isoliert werden konnten ($stau^{D3}$), repräsentiert $stau^{BL}$ sicher nicht den amorphen Zustand (Lehmann pers.Mittlg.).

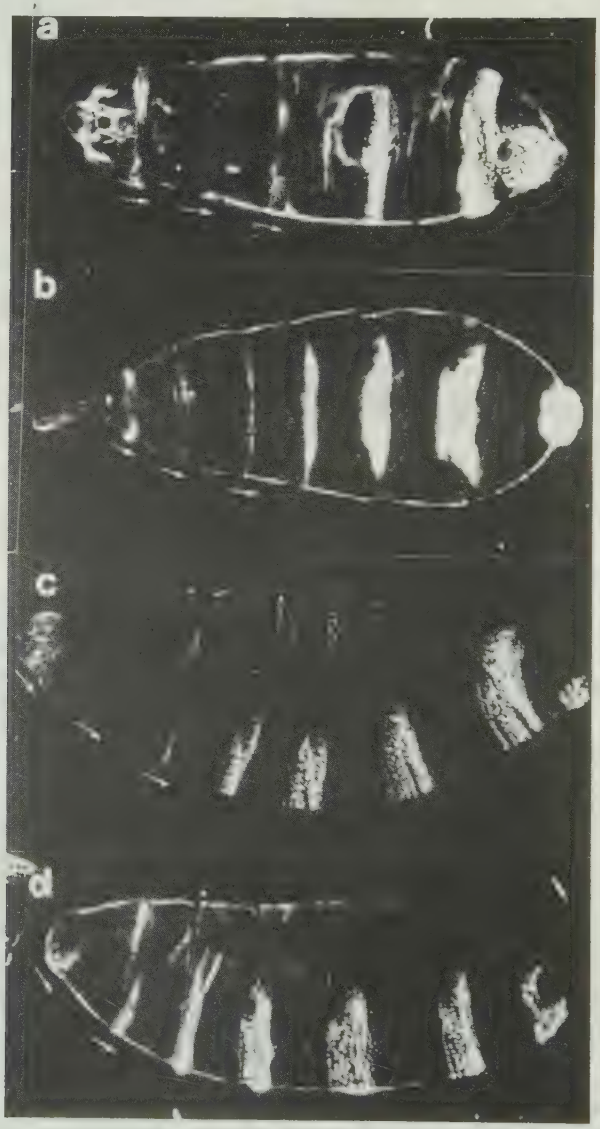
Die Beschreibung der Doppelmutanten ergibt eine Vielfalt von Daten, die sich jedoch weitgehend nach einfachen Regeln einordnen lassen. Meist verhalten sich Mutanten verschiedener Gene aus einer Phänotypenklasse gleichartig.
Im einfachsten Fall, bei Genfunktionen, die sich gegenseitig nicht oder wenig beeinflussen, ist eine einfache Addition der mutanten Defekte in den Doppelmutanten zu erwarten. Dieses Ergebnis tritt bei Kombinationen zwischen *bcd*, *tsl*, und *osk* auf. Kompliziertere Resultate ergeben sich oft in Doppelmutanten mit *exu* und *swa*; zu deren Interpretation werden gelegentlich Ergebnisse von Teil D herangezogen: *bcd*-abhängige Funktionen sind im *WT* am anterioren Ei-Pol lokalisiert. In *exu* und *swa* ist diese Lokalisation aufgehoben. Die Verlagerung anteriorer Faktoren nach posterior kann zu Suppression abdominaler Strukturen und zur Differenzierung anteriorer Strukturen in heterotopen (posterioren) Positionen führen. (Dies erklärt auch die Kompression des Abdomens im Anlagenplan von *exu* und *swa*, Teil B).

1. *torso* Gruppe

Untereinander: Folgende Kombinationen zwischen Vertretern der *torso*-Gruppe wurden hergestellt: $fs(1)N^{211}$-$fs(1)ph^{1901}$, tor^{WK}-tsl^{691}, tor^{WK}-$fs(1)ph^{1901}$, tor^{WK}-$fs(1)N^{211}$-$fs(1)ph^{1901}$, tsl^{035}-

Fig.203 Kombination *exu/swa* - torso

a,b) swa^{14}/swa^{14}; tsl^{035}/tsl^{035}: H3/4-3T-3A, H1/2-3T-3A
c) swa^{14}/swa^{15}; tor^{WK}/tor^{PM}: 3T-5A
d) swa^{14} $fs(1)N^{211}/swa^{14}$ $fs(1)N^{211}$; exu^{PJ}/exu^{PJ}: 2T-5A



fs(1)N²¹¹, *tsl¹⁰³⁵-fs(1)ph¹⁹⁰¹-fs(1)N²¹¹*; alle Kombinationen doppelt, bzw. dreifach homozygot. In keinem Fall trat eine wesentliche Verstärkung des Phänotyps auf, d.h. Embryonen doppelt oder dreifach mutanter Weibchen zeigen doch nur den einfachen torso Phänotyp. Allenfalls tritt eine Verstärkung innerhalb der Grenzen des beschriebenen Spektrums von Phänotypen auf, z.B. eine verstärkte Tendenz, Löcher in der ventralen Kutikula zu bilden. Auch für die Kombination *tor-trk* wird keine Verstärkung oder sonstige Abänderung des Phänotyps berichtet (Schüpbach und Wieschaus 86).

RL3: *RL3* ist eine stark temperatursensitive Mutanté, die (homozygot) einen Phänotyp erzeugt, der dem *torso* Phänotyp entgegengesetzt ist: Bei 29°C kommt es zum Ausfall aller nicht-terminalen Kutikulastrukturen; am Hinterende bleiben nur telsonale Strukturen erhalten (Tuft, Filzkörper, Spirakeldornen), während am Vorderende lediglich Stomodäum und manchmal ein Labrum zu finden sind. Bei Raumtemperatur ist der Phänotyp stark abgeschwächt; in variablen Umfang kommt es zur Eliminierung abdominaler und thorakaler Segmente. Bei 18°C schließlich sind die Embryonen weitgehend normal. *RL3* kartiert in der Nähe von *torso* (Schüpbach, Mayer, Klingler, persönliche Mitteilung) und Revertanten von *RL3* verhalten sich als *torso* Allele (Klingler), so daß *RL3* als hyper- und/oder neomorphe Mutation des *torso* Locus anzusehen ist.
Die Kombination *tor^RL3-tsl¹⁰³⁵* ergibt einen *tsl*-Phänotyp bei 18°C. Bei Raumtemperatur zeigen die Embryonen Segmentdefekte in variablen Ausmaß, wie es für *tor^RL3* charakteristisch ist; trotz der *tsl* Mutation ist jedoch das Telson anwesend; und wenigstens in einigen Fällen wird ein Labrum und eine Dorsale Brücke am Vorderende gebildet (Fig.201). Bei 29°C kommt ein reiner *tor^RL3*-Phänotyp zum Vorschein, während der Einfluß von *tsl* unterdrückt ist. Für alle drei Temperaturen gilt, daß sich der *tor^RL3*-Phänotyp weitgehend unabhängig von *tsl* durchsetzt; der *tsl* Phänotyp jedoch wird entsprechend der temperaturabhängigen *tor^RL3*-Expressivität abgeschwächt oder unterdrückt.
Zwar supprimiert die im Phänotyp zum Ausdruck gebrachte Hyperfunktion von *tor^RL3* den *tsl*⁻-Defekt, durch Verwendung von zwei Duplikationen für *tsl* (*tsl⁴⁺*) ließ sich aber kein *tor^RL3*-ähnlicher Phänotyp erzeugen; auch wird eine Kopie *tor^RL3* mit den *tsl* Duplikationen nicht dominant (*tor^RL3/+; tsl⁺ tsl⁺/tsl⁺ tsl⁺*).

Fig.204 Kombinationen von Mutanten der *torso*-Gruppe mit *exu*, *swa* und *stau*

	tsl	*tor*	*fs(1)N*^{211}	T
	H0 - 3T - 6A	H0/1 - 3T -6A		18°
exu	H1/2 - 3T - 7A			29°
	PJ/QR; 691/035	*PJ/PJ; WK/WK*		
	H0/1/2-(1-3)T-A(3-6)	H0/2-(2-3)T-A(3-5)	H0/1/3-3T-(3-6)A	18°
swa	H3- (3T) - A(5-7)		H0/1/2-3T-(4-6)A	29°
	14/14; 035/035	*14/14; WK/WK*	*211 14/211 14*	
stau	H2/3 - 3T - (AF)	H4 - 3T - (3-6A)		≈25°
	HL/HL; 035/035	*HL/HL; WK/WK*		
Drei- und Vierfachmutanten:		(0-1)T-7A	T(0,5-3)-(3-6)A	≈25°
		WK PJ/WK PJ; E4/E4	*14 211/14 211; PJ/PJ*	
		211 14/211 14; E4/E4	*14 211/14 211; PJ WK/PJ WK*	
		tor-exu-bcd^{E4}	*fs(1)N-swa-exu*	
		fs(1)N-swa-bcd^{E4}	*fs(1)N-swa-tor-exu*	

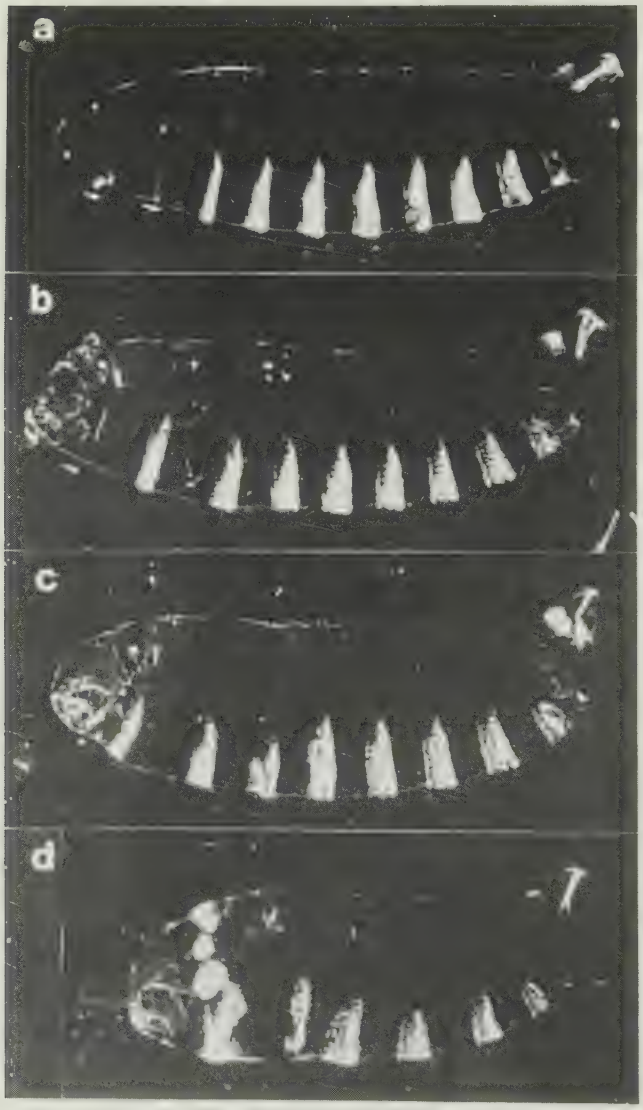
torso-*bicoid*: In *bcd-tsl* Doppelmutanten kommt es bei starken Allelen zur Überlagerung der Einzeldefekte: Die zweifach mutanten Embryonen lassen sich beschreiben als *bcd* Embryonen, denen vorderes und hinteres Telson fehlt (Fig.202b). Der tsl Effekt ist jedoch in der Doppelmutante leicht abgeschwächt; tsl^{035} Embryonen besitzen bei 18°C keine Reste von Filzkörpern, wohl aber gibt es bei 18°C Filzkörpermaterial in der Doppelmutante bcd^{E1}-tsl^{035}. Dabei tauchen die Telsonstrukturen eher am Hinter- als am Vorderende auf.
Bei Kombination von *tsl* mit schwächeren Allelen (bcd^{E5}/ bcd^{E1}; tsl^{035}/tsl^{035}) kommt es nicht einfach zu einer Überlagerung der Defekte, sondern die anterioren Defekte verstärken sich gegenseitig (Fig.202a). Möglicherweise wird in der Doppelmutante nur der Kopfdefekt verstärkt, nicht aber die Defekte im Thorax; für diese Frage ist jedoch noch eine genauere Untersuchung des Phänotyps bei verschiedenen Temperaturen erforderlich.
Ähnliche Ergebnisse ergeben sich für Doppelmutanten zwischen *torso* und *bcd* Allelen (tor^{WK}-bcd^{E1}, tor^{WK}-bcd^{E4}). Von den übrigen Genen der *torso*-Gruppe wurden nur je ein starkes *Allel mit* bcd^{E1} getestet; es ergab sich stets derselbe Phänotyp wie mit *tsl*: bcd^{E1}-trk^{P1}, bcd^{E1}-$fs(1)N^{211}$, bcd^{E1}-$fs(1)N^{211}$-$fs(1)ph^{1901}$.

torso-*exuperantia/swallow*: Der Ausfall in Doppelmutanten zwischen Vertretern der *torso* Familie und *exu* oder *swa* ist größer als die Summe der Ausfallmuster in den Einzelmutanten (Fig.203, 204). Am Hinterende kann die Anzahl verbleibender abdominaler Segmente unter 6 absinken; vorne kann es zur Eliminierung der gesamten Kopfregion kommen, so daß das vDB^{T1} den anterioren Abschluß des Kutikula-Musters bildet. *exu* und *swa* verhalten sich recht ähnlich in diesen Kombinationen. In Kombinationen mit *exu* ist die Reduktion der Kopfregion besonders stark ausgeprägt und führt häufig zum Verlust aller Kopfstrukturen (siehe auch Schüpbach und Wieschaus 1986). Wird durch Hinzunahme eines schwachen *bcd* Allels eine dreifach-Mutante gebildet, werden die abdominalen Defekte normalisiert. (Dieser Effekt wird mit der Annahme, daß die abdominalen Störungen in *exu* durch eine posteriore Lokalisation des bcd^{+}-Genprodukt verursacht werden, erklärbar).

torso-*oskar* Gruppe: Mehrere Kombinationen zwischen *tor*, *trk*, und *tsl* einerseits und *oskar* und *vasa* andererseits sind bereits beschrieben worden (Lehmann 1985, Schüpbach und Wieschaus 1986).

Fig.205 *Kombination bcd-exu* (18°)

a) exu^{PJ}/exu^{PJ}; $bcd^{E1}/+$, tel-2T-8A-Tel
b) exu^{PJ}/exu^{PJ}; bcd^{E5}/bcd^{E4}, tel-1T-8A-Tel
c) exu^{PJ}/exu^{PJ}; bcd^{E2}/bcd^{E5}, tel - 8A-Tel
d) exu^{PJ}/exu^{PJ}; bcd^{E1}/bcd^{E2}, tel - 6A-Tel



Die Doppelmutenten addieren jeweils die Ausfallregionen der Einzelmutanten (verschieden dagegen *pumilio-tsl*, Lehmann 85). Auch die Kombination von *staufen* und *tor* liefert eine Überlagerung der Phänotypen (Fig.207, siehe auch Schüpbach und Wieschaus 86). In $stau^{BL}$-tsl^{035} war die Kopfregion etwas stärker reduziert als in tor^{WK}-$stau^{BL}$.

2. Kombinationen mit *bicoid*

2.1. *bcd* mit *exu* und *swa* (Fig.205,206)

exu: *exu* verstärkt den Phänotyp schwacher und mittelstarker *bcd* Allele. Dominante Effekte des Genotyps *exu/+;Df bcd⁻/+* erzeugen in geringer Penetranz Embryonen mit defekten Köpfen. Die Phänotypen stärkerer Kombinationen zeigen neben dem Verstärkungseffekt eine Änderung im Charakter des Phänotyps: Die phänotypische Serie der Doppelmutante zeigt ein schärfer lokalisiertes Defektmuster als die *bcd* Serie. In *exu/exu;bcd⁻/+* fehlen Kopf und Prothorax; in Kombination mit schwachen bcd Allelen (homozygot) fallen weitere thorakale Segmente aus, und zwar in einer polaren Folge. Das Abdomen bleibt normal segmentiert, es dehnt sich lediglich etwas nach vorne aus. Allerdings endet die phänotypische Serie der *exu-bcd* Kombinationen mit dem starken *bcd*-Phänotyp. Nach Ausfall der bcd^+-Aktivität vermögen also Mutationen in *exu* den Phänotyp nicht weiter zu beeinflussen. Auch die abdominalen Segmentierungsstörungen, wie sie für *bcd* charakteristisch sind, kommen in *exu/exu; bcd^{E1}/bcd^{E1}* wieder zum Vorschein.

swa: Die Serie *swa-bcd* unterscheidet sich von den *exu-bcd* Kombinationen durch folgende Eigenschaften (Fig.206):

- *swa* zeigt einen geringeren Verstärkungseffekt.
- *swa* verschärft die Lokalisation des Defektmusters in *bcd* weniger deutlich als *exu*.
- Die Zellularisierungsdefekte in jungen *swa* Embryonen bleiben auch in den Doppelmutanten erhalten, dagegen werden die abdominalen *swa*-Defekte durch schwache Reduktion der *bcd* Aktivität (*swa/swa; bcd^{s}/+*) abgeschwächt. An der Funktion von *swa* können also eine *bcd*-vermittelte und eine *bcd*-unabhängige Komponente unterschieden werden.
- In Kombination mit starken *bcd* Allelen treten Embryonen mit invertierten abdominalen Segmenten auf (bicaudaler Phänotyp). *swa^{14}/swa^{14}; bcd^{E1}/bcd^{E1}* Weibchen, nicht aber *bcd^{E1}/bcd^{E1}* Weibchen, erzeugen Nachkommen mit symmetrischem Bicaudal-Phänotyp.

Fig.206 Kombination verschiedener *bcd*-Allele mit *exu, swa und stau*

In der linken Spalte sind die reinen *bcd* Phänotypen beschrieben, in den rechten Spalten die entsprechenden Doppelmutanten. Der 29°-Phänotyp ist nur angegeben, wenn er sich vom 18°-Phänotyp deutlich unterschied. Der konstante Phänotyp von *exu-bcd* Doppelmutanten zeigt auch bei Temperaturwechsel wenig Variation.
(*) Doppelmutanten von *swa* mit starken oder mittelstarken *bcd* Allelen produzieren hauptsächlich wegen des Autretens von bicaudalen Embryonen recht variable Gelege; bicaudale Embryonen treten häufiger bei der kälteren Temperatur auf.

bcd	*bcd & exu*	*bcd & swa*	*bcd & stau*	T
H5-3T-8A-Tel	tel-2T-8A-Tel	H4^{-}/3^{+}-3T-(5-8)A-Tel		18°
		H4-3T-8A-Tel		29°
Df bcd^{-}/+	*Df 9A99; PJ/PJ*	*14/14; Df 9A99*		
H3/4/5-3T-8A-Tel	tel-(1-2)T-8A-Tel	tel-H0/2-(0-3)T-8A-Tel	H2/3-T1T2,TF-tel	18°
H3/4-3T-7,8A-Tel		tel-(0-2)T-(7-8)A-Tel	H2-TfT2,T3-AF-tel	29°
E5/E4	*PJ/PJ; E5/E4*	*14/14; E5/E4*	*HL/HL; E5/E4*	
tel-H1/0-1T-7A-Tel	tel-(0-1)T-8A-Tel		tel-(o-2)T-tel	18°
			tel-(0-2)T-AF-tel	29°
E5/E2 oder *E5/E1*	*PJ/PJ; E5/E2*		*HL/HL; E5/E1*	
tel-H0/1-(0-1)T-7A-Tel	tel-6,7A-Tel	tel-3$\overleftarrow{A}$-3$\overrightarrow{A}$-tel *		18°
tel-H0/1-(0-1)T-(7,8)A-Tel		tel-(1-2)$\overleftarrow{A}$-(5,6)$\overrightarrow{A}$-Tel *		29°
E2/4	*PJ/PJ; E2/E4*	*14/14; E2/E4*		
tel-(5-7)-Tel	tel-(5-6)A-Tel	tel-(5-7)A-Tel * oder tel-(0,5-1)$\overleftarrow{A}$-(4-5)$\overrightarrow{A}$-Tel	tel-(0-3A)-tel	18°
E1/E1 oder E1/E2	*PJ/PJ; E1/E2*	*14/14; E1/E1*	*HL/HL; E1/E1*	

Es bleibt noch zu prüfen, ob diese Modifikation des *bcd*-Phänotyps auch mit anderen *swa* Allelen erreicht werden kann.

2.2. *bcd* mit Mutanten der *oskar*-Gruppe

bcd-oskar: Bei Kombination starker Allele von *oskar* (*osk*) und *bcd* überlagern sich die Effekte der Einzelmutanten. Das Ergebnis ist ein *bcd*-Phänotyp ohne Abdominalsegmente, so daß der Embryo nur mehr aus zwei Telsons entgegengesetzter Polarität besteht (Fig.207a und Lehmann, pers. Mittlg.).

bcd-osk-tsl: Bei Erweiterung zur dreifach-Mutante mit *tsl* werden auch noch die Telsonstrukturen eliminiert, so daß als ausdifferenzierter Embryo im wesentlichen ein strukturloser Kutikula-Sack übrigbleibt (Fig.207b). Häufig sind darauf aber doch einige verstreute Strukturen erkennbar, spärliche Härchenfelder, seltener ein Feld ventraler Dentikel. Die Häufigkeit solcher Reststrukturen in verschiedenen rekombinanten Stämmen war sehr unterschiedlich; meist waren sie an den terminalen Enden des Tieres zu finden, so daß auch keine Dorsoventralpolarität zum Ausdruck kommen konnte. In der Gastrulation zeigen die Embryonen aber eine Ventalfurche, die sich über die ganze Länge des Eies erstreckt.

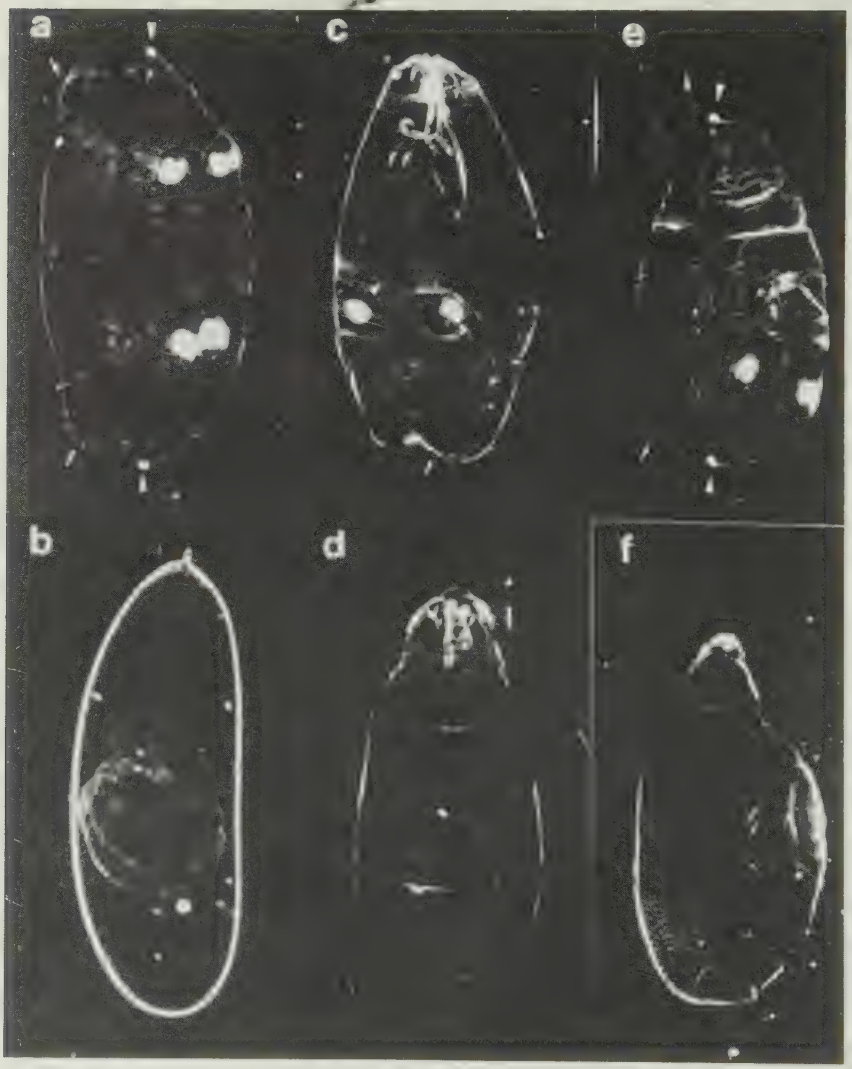
bcd-staufen: *bcd* und *stau* Mutationen verstärken sich in ihrer Wirkung auf die Kopfregion. Doppelt mutante Embryonen zeigen ein scharf lokalisiertes Defektmuster (Fig.206, 207e). Mit starken *bcd* Allelen (bcd^{E1}-$stau^{RL}$) entsteht derselbe Phänotyp wie mit *osk-bcd*.

3. Kombinationen mit exuperantia und swallow

3.1. *exu-swa*: Die Doppelmutante swa^{14}/swa^{14};exu^{PJ}/exu^{9R} zeigt einen stärkeren Phänotyp als die Einzelmutanten. Auch bei 29°C treten häufig abdominale Defekte auf. Der Ausfall anteriorer Strukturen ist bei allen Temperaturen verstärkt; die Defekte sind recht variabel, der Kopf kann vollständig fehlen oder aber auch so gut erhalten sein wie in den Einzelmutanten (H0-H3). Auch innerhalb der Gruppe von Embryonen ohne Kopfstrukturen werden nur gelegentlich kutikulare Telsonstrukturen anterior dupliziert, so daß sich keine Verstärkung zu einem *bcd*-Phänotyp einstellt. Trotz Anzeichen gegenseitiger Verstärkung in der Expressivität ergibt die Doppelmutante damit keinen neuen Phänotyp, der sich deutlich von den Einzelmutanten unterscheidet.

Fig.207 Verschiedene Kombinationen mit *stau* und *osk*

a) bcd^{E2} osk^{166}/bcd^{E2} osk^{166} tel -- tel
b) bcd^{E2} osk^{166} tsl^{035}/bcd^{E2} osk^{166} tsl^{691} --
(in Vitellinmembran)
c) osk^{166}/osk^{166} H6-3T--tel
d) $stau^{HL}$/$stau^{HL}$; tsl^{035}/tsl^{035} H4-3T-AF
e) $stau^{HL}$/$stau^{HL}$; bcd^{E1}/bcd^{E5} tel-(2-3)T--tel
f) tor^{WK} $stau^{HL}$ exu^{PJ}/tor^{WK} $stau^{HL}$ exu^{PJ} H0/1-3T-AF-tel
Pfeile: Analplatten Pfeilspitzen: Tuft



3.2. *exu, swa* mit Mutanten der *oskar* Gruppe (Fig.208 A&B)

In Embryonen dicephaler (bzw. bithorakoider) Symmetrie sind die posterioren Strukturen durch eine spiegelbildliche Verdoppelung der anterioren Strukturen ersetzt. Kombinationen von *exu* und *swa* mit Mutanten aus der *oskar*-Gruppe ergeben (abhängig von Temperatur, Locus und verwendetem Allel) häufig Embryonen mit dicephaler Symmetrie. Invertierte anteriore Strukturen werden eher mit *exu* als mit *swa* und eher mit *stau* als mit *oskar* erhalten. Die Embryonen besitzen eine variable Anzahl von Thoraxsegmenten; dazu treten an den beiden Enden (reduzierte) Kopfstrukturen und/oder Telsonstrukturen (Fig.208B). Abdominalsegmente fehlen (wenige Ausnahmen in Kombinationen mit *stau*).

stau-exu: Mit der Kombination *stau-exu* können bei Verwendung des starken Allels $stau^{D3}$ zu fast 100% vollständig symmetrische Embryonen produziert werden, die allerdings nur geringe Polarität aufweisen und insgesamt nur 2 Thoraxsegmente besitzen. Viele Embryonen zeigen gar keine differenzierten Strukturen, andere haben keine ventralen Zähnchenbänder, wohl aber dorsale Haarfelder, die Segmentierung und Polarität anzeigen können. Solche Differenzierungsschwierigkeiten finden sich auch bei anderen genetischen Kombinationen, in deren Gelegen Embryonen dicephaler Symmetrie auftreten. Möglicherweise beruhen sie auf der geringen anteroposterioren Polarität in den Eiern; anders als in *swa* geht in diesem Fall das Versagen, eine Kutikula auszubilden, nicht mit Zellularisierungsdefekten vor der Gastrulation einher. Bei dem schwächeren Allel $stau^{B1}$ und permissiver Temperatur (29°C) nimmt die Polarität zu; es werden mehr thorakale Segmente gebildet, manchmal auch Kopfstrukturen. Zugleich nimmt die Tendenz, invertierte Strukturen zu bilden, jedoch ab (siehe auch Schüpbach und Wieschaus 86).

exu-osk: Bei 18°C differenzierte praktisch kein Embryo irgendwelche Kutikulastrukturen, bei 29°C traten keine Duplikationen auf. Bei Raumtemperatur aber entwickeln sich Embryonen mit symmetrisch terminalen anterioren Strukturen. Dupliziert sind oft maxillare Kopfstrukturen und Prothoraxfelder, während die Dentikelbänder von T2 und T3 fehlen. Im Gegensatz dazu fanden sich in *stau-exu* meist nur T2 und T3, in symmetrischer Anordnung, während die mehr anterioren Strukturen fehlten.

Übrige: Duplizierte Kopfstrukturen wurden auch für die Doppelmutante *vasa-exu* beschrieben (Schüpbach und Wieschaus 86). In Kombinationen von *swa* mit *osk* oder *stau* treten nie vollkommen

Fig.208 A Kombination von *swa* und *exu* mit *osk* und *stau*.

- Die Phänotypen Formel ist in die Mitte gerückt, wenn zwischen 18° und 29° keine deutlichen Unterschiede auftraten. Der Genotyp exu^{PJ} $stau^{HL}$/exu^{QR} $stau^{D3}$ ist bislang noch nicht bei verschiedenen Temperaturen getestet.
- h1-4: Die Kopfstrukturen entsprechen in ihrem Umfang ungefähr den definierten Klassen H1-4. Das Cephalopharyngealskelett ist im Vergleich zu den maxillaren Strukturen nur schwach ausgebildet.
- *** : Weitere Thoraxsegmente sind vorhanden; sie sind jedoch schlecht differenziert, und ihre Polarität ist nicht eindeutig bestimmbar.
- $^{d)}$: Segmente sind nur auf der Dorsalseite identifizierbar.

Temperatur	18°	29°
	h1/2-$\vec{T}$1***-tel	
exu^{PJ} osk^{166}	tel-$\vec{T}$1-$\vec{T}$1-tel	
exu^{QR} osk^{166}	h1/2 - h1/2	
exu^{PJ} osk^{166} bcd^{E2}	tel-$\vec{T}\vec{F}^{d}$-$\vec{T}\vec{F}^{d}$-tel	h-$\vec{T}$1-$\vec{T}$-$\vec{T}\vec{F}$-$\vec{T}$-tel
exu^{QR} osk^{166} +		
swa^{14} osk^{166}	h3/4-$\vec{T}$1***-tel	
swa^{14} osk^{166}		
swa^{14} osk^{166} bcd^{E2}	h2-$\vec{T}$1-$\vec{T}\vec{F}$-$\vec{T}\vec{F}$-tel	h2-$\vec{T}$1-$\vec{T}\vec{F}$-$\vec{T}\vec{F}$-Af-tel
swa^{14} osk^{166} +		
		h2-$\vec{T}$1-T-$\vec{T}$f-h1-tel
exu^{PJ} $stau^{HL}$	tel-$\vec{T}$-(f)-$\vec{T}$-tel	h1/2-$\vec{T}$1-Tf-$\vec{T}$1-tel
exu^{QR} $stau^{HL}$		h1/2-3$\vec{T}$-(1-4)$\vec{A}$-tel
exu^{PJ} $stau^{HL}$	tel-$\vec{T}$1-$\vec{T}$1-tel	
exu^{QR} $stau^{D3}$		
swa^{14} $stau^{HL}$	h3/4-$\vec{T}$1***-tel	
swa^{14} $stau^{HL}$		
swa^{14} $stau^{D3}$	h2-$\vec{T}$1-$\vec{T}$f-$\vec{T}$1-tel	
swa^{14} $stau^{HL}$		
swa^{14} Bic^{IIIE} $stau^{HL}$	tel-h2-$\vec{T}$1-$\vec{T}\vec{F}$-$\vec{T}$1-h1/2-tel	
swa^{14} Bic^{IIIE} $stau^{HL}$		

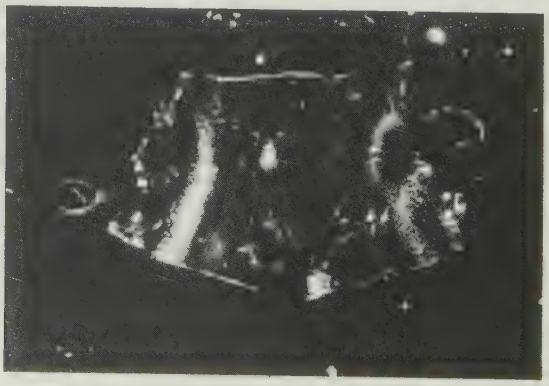


Fig.208 B Symmetrisch dicephaler Embryo: swa^{14}-$BicD^{IIIE}$-$stau^{HL}$

symmetrische Embryonen auf. Besonders bei *swa-osk* ist es schwierig, eindeutige Fälle von invertierten anterioren Strukturen zu finden, z.T. vielleicht auch wegen schlechter Differenzierung und Löchern in der Kutikula. Die Schwierigkeit, die Segmentbänder von T2 und T3 auszudifferenzieren, kann jedoch als Folge verringerter Polarität betrachtet werden, und in einigen Fällen wird doch eine schwache Polaritätsumkehr deutlich:

swa-osk: h-$\bar{T}$1-$\bar{T}\bar{f}$-$\bar{T}\bar{f}$-tel

Invertierte anteriore Strukturen fanden sich auch in der Kombination *swa-tud*. Weibchen homozygot für *swa-vasa* legten keine Eier ab; es ist nicht klar, ob diese Sterilität einem spezifischen Effekt der beiden maternalen Mutanten zuzuordnen ist.
Gleichverteilung der *bcd*$^+$-Aktivität (verursacht durch *exu*) und Fehlen eines polarisierenden Einflusses von seiten des Polplasmas (verursacht durch *osk* oder *stau*) können die Phänotypen der Doppelmutanten weitgehend erklären. Ob eine bipolare Verteilung der *bcd*$^+$-Aktivität angenommen werden muß, um die dicephale Symmetrie zu erklären, bleibt aber offen.

Zusammenfassung C-I: *bcd*, *osk* und *tsl* betreffen etwa komplementäre Regionen des anterioren Musters. In Doppelmutanten addieren sich ihre Defekte (wenigstens bei Verwendung starker Allele); dagegen wird keine Verstärkung amorpher Phänotypen durch Kombination mutanter Allele derselben Gengruppe erreicht (z.B. *tsl-tor* oder *osk-vas*, Lehmann pers.Mittlg.). *exu*, und weniger deutlich auch *swa*, ergeben in Kombination mit Mutanten der *osk* -Gruppe neuartige, unerwartete Phänotypen. Dieses Sonderverhalten läßt sich dadurch erklären, daß die Mutanten beider Gene nicht einfach eine morphogenetische Funktion eliminieren, sondern die Lokalisation einer solchen Funktion (*bcd*) beeinträchtigen.
stau vereinigt *osk*- und *exu*- ähnliche Eigenschaften. Beide, *exu* und *stau*, betreffen die anteriore und die abdominale Region im Embryo. Während die Effekte von *exu* in *exu-bcd* unterdrückt erscheinen, bleiben in *stau-oskar* und in anderen Kombinationen zwischen *stau* und Vertretern der *oskar-Gruppe die stau*-spezifischen Kopfdefekte bestehen (Lehmann pers.Mittlg., Schüpbach und Wieschaus 86). Folgende funktionellen Abhängigkeiten würden die Ergebnisse erklären:

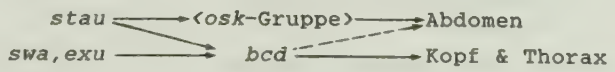
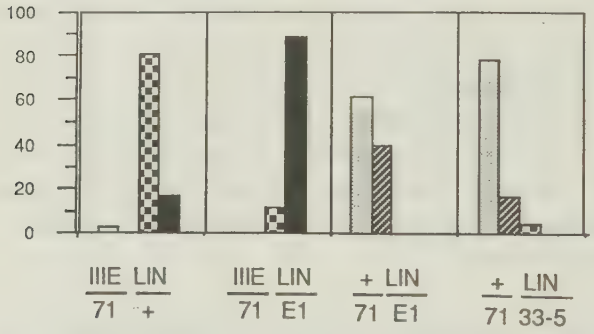
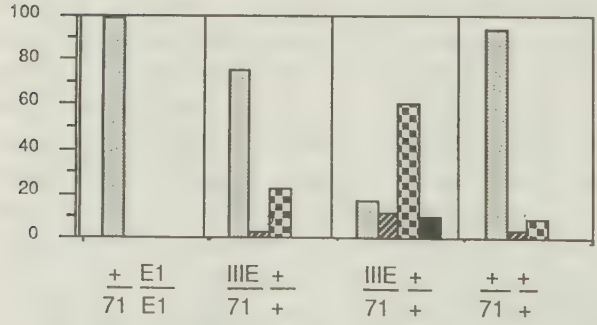


Fig.209 Kombination von *bcd* mit *Bic-D* (18°C)
Bic-D Allele: *IIIE = Bic-D^{IIIE48}* *71 = Bic-D^{7134}*
bcd Allele: *LIN, E1, 33-5*
(f),(g): Verschiedene Gelege desselben Genotyps

In doppelt homozygot mutanten Kombinationen (b) bewirkt bcd *eine deutliche Verschiebung des phänotypischen Spektrums zu kurzsegmentigen bicaudalen Embryonen, ein Effekt, der als Verstärkung des* Bicaudal-*Phänotyps gewertet werden könnte. Wenigstens das Allel* bcd^{E1} *kann jedoch auch eine deutliche Abschwächung der* Bicaudal-*Penetranz hervorrufen (e, 0% bicaudale,n=72); die* bcd *Phänotypen dieser Kombination zeigen ebenfalls eine besonders geringe Anzahl abdominaler Segmente (n_a=3,8 statt $n_a \approx 5$ in* bcd^{E1}/bcd^{E1} *bei 18°C). Bei 29°C verstärkt* bcd^{E1} *im selben Genotyp* (71/+;E1/E1) *die Penetranz von bicaudalen Embryonen (nicht gezeigt).*





Symmetrisch bicaudale Embryonen, 2-3 Segmente

Symmetrisch bicaudale Embryonen, 4-6 Segmente

Asymmetrisch bicaudale Embryonen

Sonstige, *bcd* bis normale

II KOMBINATIONEN MIT *BICAUDAL*

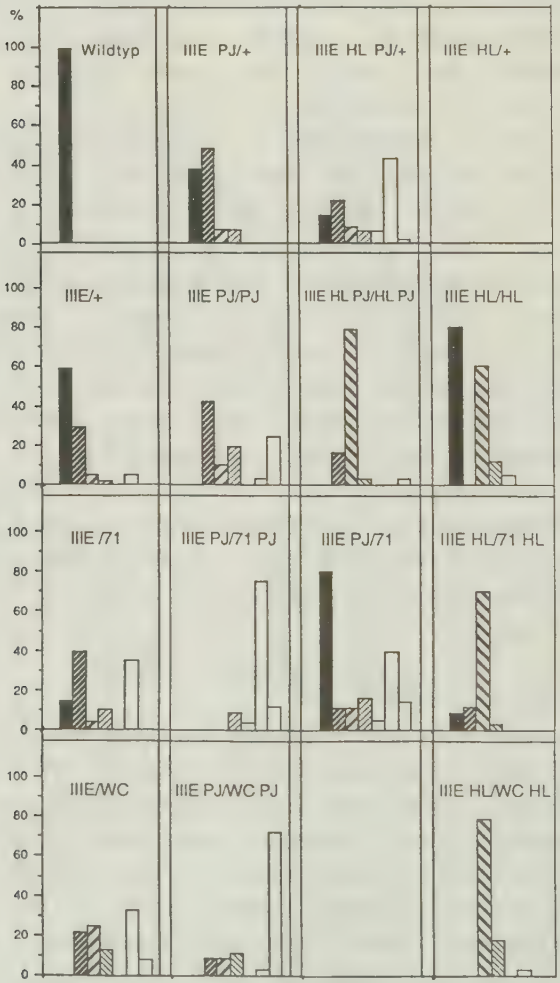
In bicaudalen Embryonen fehlen Kopf, Thorax und anteriores Abdomen. Stattdessen sind am anterioren Ende Abdominalsegmente spiegelbildlich zusammen mit einem Telson dupliziert. Von vier Genen im Genom sind Mutationen isoliert worden, die maternal die Bildung bicaudaler Embryonen verursachen; in allen Fällen handelt es sich um partiell penetrante Mutationen, die neben bicaudalen Embryonen und Wildtypen ein kontinuierliches Spektrum von Phänotypen mit unterschiedlich starker Reduktion der anterioren Strukturen produzieren (Bull 66, Nüßlein-Volhard 77 & pers.Mittlg., Mohler und Wieschaus 85).
In *Bic-D* führen amorphe Mutationen zu Follikeln ohne Oozyte, aber mit 16 Nährzellen (Mohler und Wieschaus 85); nur dominante, revertierbare, antimorph wirkende *Bic-D* Mutationen erzeugen den Bicaudal-Phänotyp; homozygot oder transheterozygot zeigen die dominanten Allele eine gesteigerte Penetranz des Bicaudal Phänotyps (Mohler und Wieschaus 85). Die bicaudale Symmetrie wird durch heterotope Lokalisation von Polplasma-Aktivität am anterioren Pol erzeugt (Lehmann 85, Lehmann und Nüßlein-Volhard 86); der Kutikula-Phänotyp ist ein direktes Abbild eines veränderten blastodermalen Anlageplans (Mohler und Wieschaus 86).
Die Penetranz von *Bic-D* ist bei 18°C sehr viel höher als bei 29°C. Bei Wiederholung einzelner Experimente, erwiesen sich die bei 29°C erzielten Ergebnisse als schlechter reproduzierbar. Die folgenden Beschreibungen beschränken sich daher auf die Phänotypen von 18°C-Gelegen.

1. *Bic-D* und *bcd* (Fig.209)

Die mutanten Effekte von *Bic-D* und *bcd* überlagern sich, d.h. in einem Teil der Embryonen kommt der *bcd*-Phänotyp zur Ausprägung, während die übrigen eine phänotypische Verstärkung zu bicaudalen Phänotypen erfahren. Die Frequenz bicaudaler Embryonen wird nicht, oder wenigstens nicht eindeutig beeinflußt. Abhängig davon, welches Allel verwendet wird, und ob es homo- oder heterozygot eingesetzt wird, kann eine Verstärkung oder eine Abschwächung der Penetranz gefunden werden. Die Embryonen mit *bcd*-Phänotyp tendieren dazu, nur eine geringe Anzahl von Abdominalsegmenten auszubilden.

Fig.210 Kombination von *exu* und *stau* mit *Bic-D* (und *Bic-C*)

Einteilung der Gelege verschiedener Genotypen in phänotypische Klassen; *exu* erhöht, *stau* verringert die Segmentzahl in bicaudalen Embryonen. In Kombinationen mit *stau* werden im duplizierten Abdomenteil mehr abdominale Segmente gebildet, als im primären Abdomen, so daß invertierte asymmetrisch bicaudale oder invertierte bicoidartige Phänotypen zustandekommen.
Allele: *IIIE = Bic-D^{IIIE48}, 71 = Bic-D^{7134}, WC = Bic-C^{WC45}*
HL = stau^{HL} PJ = exu^{PJ}



normal; bei Kombination mit stau (HL) Abdomendefekte

Kopfreduziert

Kopfstrukturen fehlen, bcd ähnlicher Phänotyp mit oder ohne Thorax, bei Kombinationen mit stau zeigen die Embryonen invertierte Polarität.

Asymmetrisch bicaudale Embryonen

symmetrisch bicaudale Embryonen mit 2-3, 4-5 und 6,7,8 Segmenten pro Abdomenhälfte (1.,2. und 3. blanke Säule).

2. *Bic-D* und *exu, swa, stau* (Fig.210,211)

exu-BicD: Ähnlich dem Einfluß von *bcd*, scheint *exu* die Penetranz von *Bic-D* manchmal zu verstärken, manchmal abzuschwächen (Siehe auch Mohler und Wieschaus 85). Charakteristisch aber ist eine phänotypische Veränderung des Bicaudal-Phänotyps: Die bicaudalen Embryonen zeigen eine erhöhte Anzahl von abdominalen Segmenten; im Extremfall kann die Inversionsebene symmetrischer Embryonen im A1 liegen, so daß der Embryo insgesamt 15 abdominale vDB's besitzt, während in der Einfachmutante nicht mehr als 11 vDB's auftreten. In asymmetrischen Embryonen kann die Symmetrieumkehr erst in einem Thoraxsegment erfolgen.

swa-BicD: *swa* unterdrückt die Bildung von bicaudalen Embryonen. Weibchen des Genotyps swa^{14}/swa^{15}; $Bic\text{-}D^{7134}/Bic\text{-}D^{III E48}$ produzierten in unterschiedlichen Gelegen nur zwischen 0% und 5% bicaudale Embryonen (bezogen auf alle differenzierten Embryonen). Die *swa* spezifischen abdominalen Defekte erschienen verstärkt. Der Anteil nicht differenzierter Embryonen war in Vergleich zur Einzelmutante swa^{14}/swa^{15} nicht verringert.

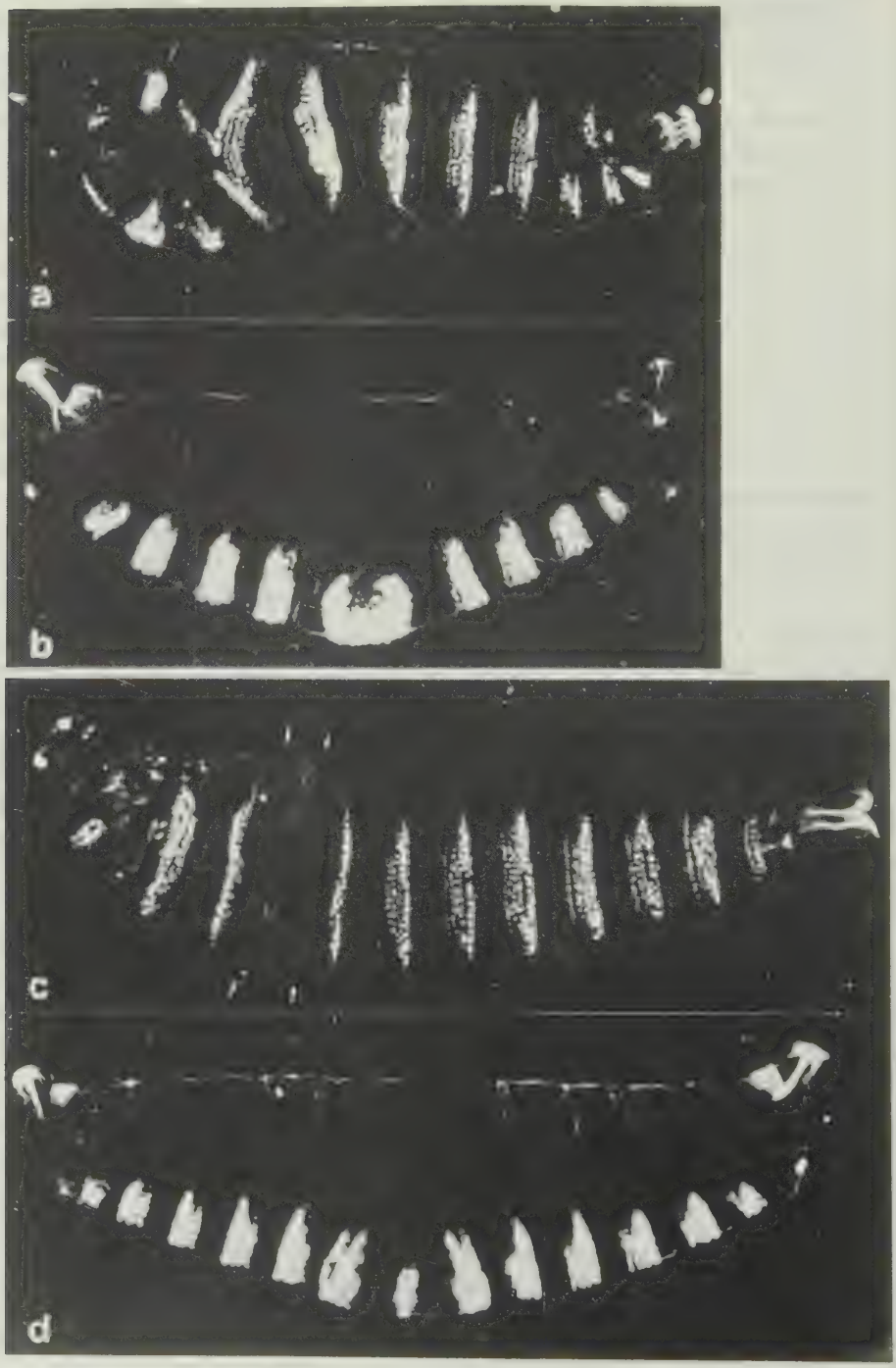
stau-BicD und *stau-exu-BicD*: *stau* verstärkt die Penetranz von bicaudalen Embryonen deutlich; anders als bei *exu-BicD* zeigen die bicaudalen Embryonen dabei eine sehr geringe Segmentzahl. Im Extremfall (18°C, *Bic-D* homozygot) verschwindet das originäre Abdomen und es bleibt nur das duplizierte Abdomen übrig; dessen Segmentzahl ist dann wieder erhöht, so daß ein *bicoid* Phänotyp mit invertierter Lage im Ei zustande kommt (Lehmann, pers.Mittlg.). In der Dreifach-Mutante *BicD-stau-exu* besitzen die Embryonen dieselbe invertierte Lage; es wird jedoch eine größere Anzahl von Segmenten angelegt, so daß sich nahe dem originären Hinterpol noch Thoraxsegmente bilden.

swa-BicD-stau: Es entstehen dicephale Embryonen. Die durch *Bic-D* erzeugte abdominale Aktivität am Vorderende (Lehmann 85, Lehmann und Nüßlein-Volhard 86), balanciert die in *swa-stau* noch vorhandene Asymmetrie derart aus, daß Phänotypen, wie sie für *stau-exu* typisch sind, entstehen.

3. *Bic-C*

Homozygot verändert *Bic-C* die Eiform; die Eier initiieren keine zygotische Entwicklung. Dominant erzeugen die *Bic-C* Allele wärmesensitiv bei 29°C Bicaudal Embryonen (Mohler 86). *Bic-C* verstärkt in trans den dominanten Effekt von *Bic-D* (hauptsächlich bei 18°C); dies gilt auch für die Kombinationen *BicD-BicC-stau* und

Fig.211 *exu*^{PJ} *Bic-D*^{IIIE48}/*exu*^{PJ} Im Gelege der Doppelmutante finden sich neben Embryonen mit normalem *Bic-D* Phänotyp (a,b) solche mit vergrößerter Segmentzahl (c,d). In asymmetrischen Embryonen kann die Polaritätsumkehr im Thorax erfolgen (c). (Die Segmentierungsstörungen am posterioren Ende von (a) sind vermutlich ebenfalls auf den Einfluß von *exu* zurückzuführen.)



BicC-BicD-exu (Fig.210). *Bic-C* (getestet bei 29°C) erscheint in Doppelmutanten mit *bcd* in seiner Penetranz unverändert. Bei Kombination mit *exu* (*PJ/QR*), *swa* (*14/14*) and *stau* (*HL/HL*) traten keine bicaudalen Embryonen auf (0% bei n=58, n=78, n=44 resp.). Demnach ist der dominante Effekt von *Bic-C* entweder unterdrückt oder allenfalls unbeeinflußt geblieben (die Variation der Penetranz von $Bic\text{-}C^{WC45}$/CyO lag zwischen 5% und 20% in verschiedenen Gelegen). Dagegen verstärkte *Bic-C* die Abdomendefekte von *exu* und *swa*.

Zusammenfassung C-II: Signifikant sind die qualitativen Veränderungen des *Bicaudal* Phänotyps durch *exu* und *stau*. *stau* vermag offenbar die Balance zwischen der originären und der duplizierten Abdominalregion zugunsten der letzteren zu verschieben. *exu* erhöht die Anzahl der Segmente und kann dadurch sogar zur Bildung von Thoraxsegmenten am posterioren Pol beitragen. Wegen der großen Variabiltät ist die Bedeutung veränderter Penetranzen schwierig zu beurteilen. Der genetische Hintergrund wurde von mir nicht in zusätzlichen Kreuzungen kontrolliert. Der supprimierende Effekt von *swa* auf *Bic-D* trat jedoch in verschiedenen Kombinationen mit verschiedenen Allelen auf (nicht gezeigt) und erscheint mir daher signifikant. Überraschenderweise bringt *bcd* keine eindeutige Verstärkung der *Bicaudal*-Penetranz.
Während bei den rezessiven Genen Mutanten ähnlichen Phänotyps auch ähnliches Interaktionsverhalten an den Tag legen, zeigt *Bic-C* in Doppelmutanten ganz andere Reaktionen als *Bic-D*.

III KOMBINATIONEN MIT ZYGOTISCHEN GENEN

Die besprochenen maternalen Mutanten wurden mit den Genen *hunchback (hb)*, *Krüppel (Kr)*, *knirps (kni)* und *tailless* (tll^{L1022}) kombiniert. Einige dieser Kombinationen sind bereits beschrieben (Lehmann 85: *tsl-hb*, *tsl-kni*, *bcd-hb*, *osk-hb*, *pum-hb*; Lehmann persönliche Mitteilung: *osk-kni*, $pum\text{-}tll^{L1022}$, *bcd-hb*, *bcd-kni*). Ich kombinierte $tor^{WK34}\text{-}Kr^{8}$, $osk^{166}\text{-}Kr^{8}$, $tsl^{035}\text{-}tll^{L1022}$ und $bcd^{E1}\text{-}tll^{L1022}$; in diesen Kombinationen wurden jeweils starke Allele der untersuchten Gene verwendet. Die zygotisch homozygot mutanten Embryonen konnten anhand des Segmentierungsphänotyps meist ohne weitere unabhängige Marker identifi-

Fig.212 Kombinationen zwischen Allelen von *bcd* und *Krüppel (Kr)*

Krüppel		*bicoid*				T
	+/+	111/E5	E4/E4	E1/E4	E1/E1	
+/+		H4/5-3T-8A	H1/2-2T-8A	tel-7,8A-Tel	tel-6,7A-Tel	29°
Kr^{XII}/Kr^{XII}	H5-1T-7A	H4/5-2T-6A	H2-T-6A	tel-5,6A-Tel	tel-6,7A-Tel	29°
Kr^{8}/Kr^{XII}	H5-Tf-5A	H4/5-1T-6A	H1/2-(Tf)-5A	tel-T1-3A-Tel	tel-T1-A-2A-Tel	29°
Kr^{8}/Kr^{8}	H5-(Tf)-$\overleftarrow{A}$-3$\overrightarrow{A}$		H1/2-2,5$\overleftarrow{A}$-2,5$\overrightarrow{A}$-Tel	Tel-2$\overleftarrow{A}$-2$\overrightarrow{A}$-Tel	Tel-2$\overleftarrow{A}$-2$\overrightarrow{A}$-Tel	18°
			tel-H1/2-1,5$\overleftarrow{A}$-1,5$\overrightarrow{A}$-Tel	Tel-1,5$\overleftarrow{A}$-1,5$\overrightarrow{A}$-Tel		29°

T1 vergrößertes Thoraxsegment
Tel! posteriores Telson ist nur bei Tieren mit Duplikation berücksichtigt
Phänotyp der *Kr* Allele: Preiss 85

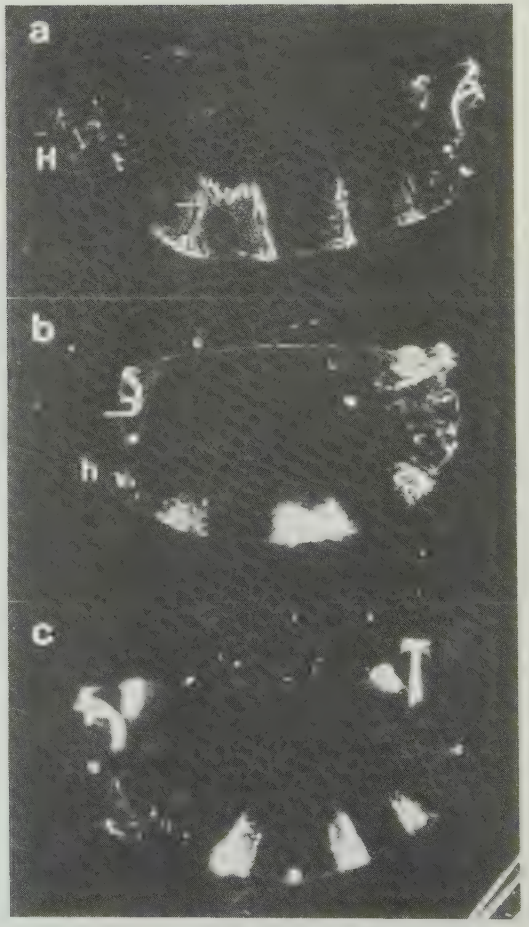


Fig.213 Kombination *Kr-bcd*

a) Kr^{8}/Kr^{8}
b) Kr^{8}/Kr^{8}; bcd^{E1}/bcd^{E4}
c) Kr^{8}/Kr^{8}; bcd^{E1}/bcd^{E1}

zu (a): H5-Tf-$\overleftarrow{A}$ - 3$\overrightarrow{A}$ - Tel
zu (b): Tel- H1 -$\overleftarrow{A}$-$\overleftarrow{A}\overrightarrow{A}$ - A8 -Tel
zu (c): Tel-$\overleftarrow{A}$-$\overleftarrow{A}$(7?)-$\overleftarrow{A}$f-$\overleftarrow{A}$7-A8-Tel

ziert werden (Ausnahmen: *osk-kni*, *bcd-hb*, tsl-tll^{L1022}). Für andere Kombinationen wurden Allele unterschiedlicher Stärke untersucht (Fig.212 bis Fig.215).
Die doppelt mutanten Phänotypen aus allen diesen Kreuzungen lassen sich weitgehend als eine Überlagerung der Defekte der Einzelmutanten beschreiben; folgende Ausnahmen erscheinen erwähnenswert:

- Die Entwicklung des Prothorax, von dem in stark mutanten *Kr* Embryonen nur mehr unscheinbare Reste erhalten bleiben , ist in Kombination mit *exu* und *swa* deutlich verbessert (Fig.214). Auch im Fall von *hunchback* schwächen *exu* und *swa* die Eliminierung von Thoraxstrukturen ab (Fig.214). In einer Kombination von starken *hunchback* Allelen kombiniert mit mittelstarken *bcd* Allelen (*bcd*^{E1}/*bcd*^{111}; *hb*^{7M48}/*hb*^{7M48}) blieb ebenfalls der Prothorax erhalten (Lehmann, pers.Mittlg.).
- In Kombination mit *bcd* ist die invertierte abdominale Region, die den starken *Kr*-Phänotyp kennzeichnet, auf 2 Segmente vergrößert (Fig.212,213). Mit starken *bcd* Allelen kommt es dadurch zu kurzsegmentigen bicaudalen Phänotypen. Invertierte Segmente treten auch in doppelmutanten *swa-hb* Embryonen auf (Fig.214, 215), allerdings nur bei 18°C und nicht mit 100% Penetranz. Die Expression von *hb* hat neben dem (wichtigeren) zygotischen auch einen maternalen Anteil (Lehmann 85); invertierte abdominale Segmente treten in einfach mutanten *hb* Embryonen nur auf, wenn beide Expressionsanteile eliminiert sind.
- *tll* eliminiert in den Embryonen das A8 und die epidermalen Teile des Telsons, doch nur Teile des Proktodäums und nicht den Hinteren Mitteldarm; anterior ist das Labrum und der procephale Lappen in der Größe reduziert (Strecker et al.86). In den Doppelmutanten *exu-tll*^{L1022} und *swa-tll*^{L1022} fehlen stets die Antennen; die Einzelmutanten verstärken sich also in ihren Kopfdefekten. Das verfügbare *tll*^{L1022} Allel ist jedoch gekoppelt mit einer anderen Mutation, die Defekte in der Kopfregion hervorruft, so daß der spezifische Einfluß von *tll* noch nicht ganz geklärt ist.

IV KOMBINATIONEN MIT MUTANTEN DES DORSOVENTRALSYSTEMS

Gelegentlich nach dorsal verschobene Kopffalten in der Gastrulation von *tsl*^{691} können als Anzeichen einer Ventralisierung gedeutet werden. Es wurde daher untersucht, ob *tsl* den dominanten Einfluß des dorsalisierenden Gens *dl*^{1} (Nüßlein-Volhard et al.80)

Fig.214 Kombination von *swallow und exuperantia* mit zygotischen Gap Mutanten

Von *hb,Kr* und *kni* wurde jeweils ein schwaches und ein starkes Allel untersucht. Das schwache Allel ist jeweils in der oberen Zeile einer Querspalte angeführt; der rein zygotische Phänotyp ist in der Spalte "maternal-Wildtyp" beschrieben.
(*tll*) : Es handelt sich hier um eine Doppelmutante (siehe Text).

zygotisch:		maternal		
Locus	Allele	Wildtyp	*exu: PJ42/QR9*	*swa: 1497/1497*
(tll)	*L1022*	H5-3T-8A	H3-3T-8A	H3-3T-8A
	9R12 x 9R12	h¹/H-T1T3-12345678-Tel	h-(2-3)T-12345678 - Tel	h - (2-3)T-12345678 - Tel
hb	*14F21 x 9R12*	H - T1 - 12345678-Tel	h-T1 T3- 12345678 - Tel	(h)-(1-2)T-1234567(8)-Tel
	14F21 x 14F21	h¹ - 123456-(7&8)-Tel	tel-(S)- 123456(7&8)A-Tel	tel - A-A-A-456-(7&8)-tel**
	XII x XII	H-*T1*-7A-Tel	h-(2-3)T-6A-Tel	h-T-(5-6)A-Tel
Kr	*8 x XII*	H-*T1*-5A-Tel	h-T1 -Af-4A-Tel	h-T-(4-5)A-Tel
	8 x 8	H-A-A-2A-Tel	h-T -A-A-2A-Tel*	h-(Tf)-A-A-2A-Tel
	14F107x 14F107	H-3T-(4-5)A-Tel	h-3T-(3-4)A-Tel	h-3T-(3-4)A-Tel
kni	*1-19 x 1-19*	H-3T-AF-A8-Tel	h-3T-AF-A8-Tel	h-3T-AF-A8-Tel

(*)* = (große) Variabilität
h¹ = kein Labium
T = Thoraxsegment vergrößert

Phänotypen der *Kr* Allele: Preiss 85
hb & kni Allele: Lehmann 85

beeinflußt. Die Kreuzung erbrachte keine plausiblen Ergebnisse; sowohl die Eliminierung von tsl^+ als auch die Einführung einer Duplikation für tsl^+ verstärkten die Dorsalisierung.
tsl und die dominant ventralisierende Mutante cac^{A2} (Roth, pers.Mittlg.) scheinen sich gegenseitig zu verstärken:

	fk	breit	Form	
$cac^{A2}/+;\ tsl^+/tsl^{135}$	stets	+	selten	}
$cac^+/+;\ tsl^{135}/tsl^{135}$	meist	-	nie	} bei 29°C
$cac^{A2}/+;\ tsl^{135}/tsl^{135}$	nie	++	oft	}

(**fk** = Filzkörper anwesend, **breit** = vDB's verbreitert, **Form** = Formveränderungen des Embryos mit Segmentierungsstörungen, wie sie für ventralisierende Mutanten charakteristisch sind.)
Der *cac*-Phänotyps ist bei Godt (84) beschrieben. Die Kriterien "breit" und "Form" sind spezifisch für *cac*, während der Ausfall der Filzkörper durch *cac* oder *durch tsl* verursacht sein kann.
Wegen der Variabilität der dominanten Expression von *dl* und *cac* sind die Ergebnisse noch nicht zufriedenstellend. Vielleicht sind auch allelspezifische Unterschiede zwischen tsl^{691} und tsl^{146} zu berücksichtigen.

Fig.215 Kombinationen *swa - hb*

a) hb^{14F21}/hb^{14F21},
b,c) hb^{14F21}/hb^{14F21}; swa^{14}/swa^{14}

a) h-Ā-Ā-Ā3-Ā4-Ā5-Ā6-Ā(7&8)-tel
b) tel-Ā-Ā-Ā3-Ā4-Ā5-Ā6-Ā(7&8)-tel
c) tel-Ā-Ā-ĀĀ-Ā(7&8?)-tel

Die ursprüngliche Lage des Embryos (c) im Ei ist nicht bekannt.
(7&8): die letzten beiden Abdominalsegmente in *hb* sind fusioniert.

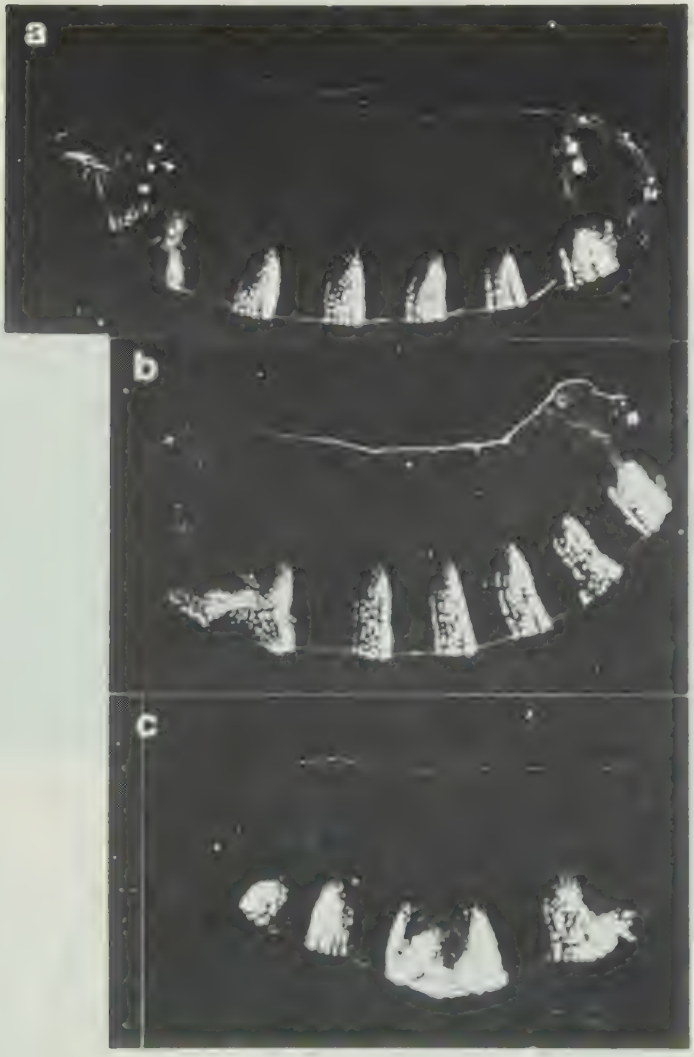
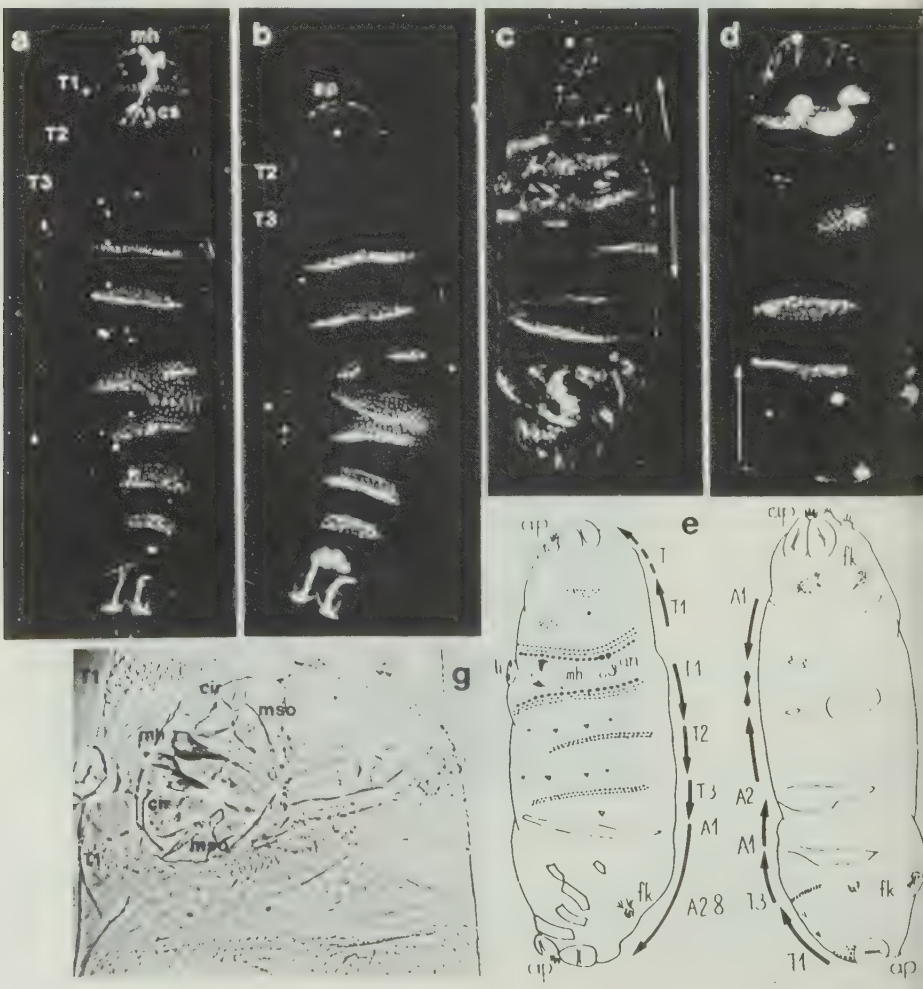


Fig.301 Transplantation von anteriorem Zytoplasma in *bcd* Embryonen.
Tpl: Dp bcd⁺ (ant.,UF) --› bcd^{E1}/bcd^{E2} (15%.50%.85%EL,S2)

a) Anterior injiziert; Induktion von Kopf- und Thoraxstrukturen.
b) Anterior injiziert; Induktion von Thoraxstrukturen.
c,e,g) Injiziert bei 50% EL; "inneres" Maximum mit Kopfstrukturen (li,mh, cir,mso,an) zwischen zwei Prothoraxsegmenten. Das Abdomen ist partiell supprimiert.
d,f) Posterior injiziert; am Hinterende wurden Thoraxsegmente induziert. Polarität und Segmentqualität im Abdomen richten sich entsprechend neu aus.

ap = Analplatten, cir = Cirri, cs = Cephalopharyngealskelett, mh = Mundhaken, mso = maxillares Sinnesorgan, fk = Filzkörper;
[gestrichelte] Pfeile : Segmentpolarität [nicht eindeutig].
li und an, labiale Strukturen und Antenne sind beide in diesem Präparat nicht eindeutig identifizierbar.

Anmerkung: Die Kopfstrukturen in c,e,g) sind nicht entlang der anteroposterioren Achse ausgerichtet, sondern lagern sich senkrecht dazu in einem Ring tangential um den Embryo herum an.



D) RÄUMLICHE, ZEITLICHE UND GENETISCHE CHARAKTERISIERUNG MATERNAL DETERMINIERTER ZYTOPLASMAAKTIVITÄTEN

Phänotypen von Mutanten wie *bcd* oder *exu* demonstrieren die Abhängigkeit der Musterbildung von maternaler genetischer Information. Durch Transplantation, Eliminierung oder Verlagerung von Zytoplasma definierter Ei-Regionen läßt sich testen, ob und wie solche Information in Form räumlich lokalisierter Substanzen vorliegt. Mutanten reagieren eher als *WT*-Embryonen auf derartige Manipulationen mit morphologischen Veränderungen. Sie sind daher für die Identifizierung lokalisierter zytoplasmatischer Faktoren besonders gut geeignet. Eine posteriore abdomeninduzierende und eine anteriore kopfinduzierende zytoplasmatische Aktivität können qualitativ unterschieden werden und werden im folgenden vorgestellt und untersucht.

I ANTERIORES ZYTOPLASMA

1. Injektion von Wildtyp-Zytoplasma in *bcd* Embryonen

Der Versuch, die in *bcd* Embryonen fehlende *bcd*$^+$ Aktivität durch Injektion verschiedener Zytoplasmafraktionen aus *WT* Eiern zu ersetzen, zeigte, daß anteriore Strukturen in stark mutanten *bcd* Embryonen folgendermaßen induziert werden können: Zytoplasma wurde am anterioren Ende frisch abgelegter Eier entnommen und wiederum an das anteriore Ende junger Empfängerembryonen transplantiert. Die Menge transplantierten Materials machte etwa 5% des Eivolumens aus, und durchschnittlich wurde Zytoplasma aus einem Donor für 1-2 Rezipienten aufgewendet (D/R=1..0,5). Auf diese Behandlung reagierten fast alle Empfänger mit einer Normalisierung ihres Phänotyps. Das Spektrum normalisierter Embryonen entspricht in erster Näherung den verschiedenen Phänotypen der allelischen Serie. In einigen Embryonen ließen sich nur Thoraxstrukturen induzieren (Fig.301b), während in anderen obendrein Kopfstrukturen in unterschiedlichem Umfang auftraten (Fig.301a). In drei außergewöhnlichen Fällen überlebten die Tiere bis zur Verpuppung. Die Häufigkeit, mit der die behandelten Embryonen verschiedene Grade von Anteriorisierung erreichen, gibt ein Maß für die Stärke der anterioren Induktion ab.

Fig.302-304 Transplantation von anteriorem Zytoplasma, aus *bcd*$^+$ Eiern in *bcd* Embryonen

Häufigkeit und Qualität induzierter anteriorer Strukturen kennzeichnen die unterschiedliche Reaktion der Rezipienten bei Variation unterschiedlicher Parameter:
○ Induktion von Thoraxstrukturen (schwache Reaktion)
● Induktion von Thorax- und Kopfstrukturen (starke Reaktion)
◔ Spezialfall: Thorax- und Kopfstrukturen (schwache Reaktion)
Standardbedingungen: *Tpl: bcd*$^+$ *(80%-100%EL,UF)* ⟶ *bcd*^{E1}/*bcd*^{E2} *(85%EL,S2)*
Die transplantierte Menge entspricht etwa 5% des Eivolumens.
Die durchschnittliche Anzahl von ausgewerteten Embryonen pro Meßpunkt ist 33.

Fig.302 Mengenabhängikeit

a: *Tpl:* *Dp bcd*$^+$ ⟶ *bcd (85%EL, S2)*
(Volumen Variation)

b: *Tpl: Dp bcd*$^+$*.bcd*$^{1+}$*.bcd* ⟶ *bcd (85%EL, S2)*
mit *bcd*$^{1+}$ = *Df(3R)9A99/+*, *bcd* = *bcd*^{E1}/*bcd*^{E2}

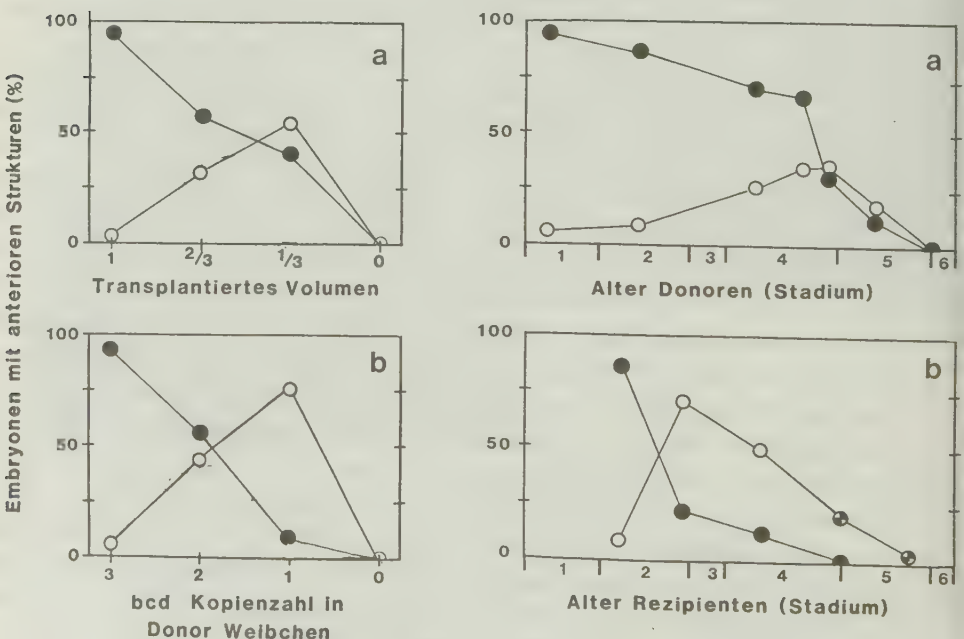
Verringerung der bcd$^+$ *Kopienzahl in den weiblichen Eltern der Donoreier in den Stufen 3:2:1:0 (b) führt zu einer ähnlichen Abschwächung anteriorer Induktion, wie eine Verringerung des transferierten Zytoplasmavolumens in denselben Schritten (a).*

Fig.303 Altersabhängigkeit

a: *Tpl: Dp bcd*$^+$ *(ant., x)* ⟶ *bcd (85%EL,S2)*
x = (UF.S2.S4ab.S4c.S4d.S5ab.S5c,6)

b: *Tpl: Dp bcd*$^+$ *(ant.,UF)* ⟶ *bcd (85%EL, y)*
y = (S2.S2^1.S3,4abc.S4d,5a.S5bc)

Die Altersangabe S2^1 bezeichnet Embryonen in der späten S2 Phase.
Die bcd$^+$ *abhängige anteriore Aktivität beginnt in den Donoren mit dem Ende der Furchungsteilungen (S4a) abrupt abzufallen. Die Reaktivität in den Rezipienten ist bis zu diesem Zeitpunkt ebenfalls im wesentlichen verschwunden.*



1.1. Gen Dosis und Zytoplasmvolumen (Fig.302)

Die Aktivität anterioren Zytoplasmas hängt stark vom Genotyp der Weibchen ab, die die Donor-Eier legen. *bcd*^{S} Embryonen enthalten keine Aktivität. Schrittweise zunehmende biologische Aktivität wird dagegen in Eiern von Weibchen mit zunehmender *bcd*$^{+}$-Kopienzahl gefunden (*Dfbcd*$^{-}$*/bcd*$^{+}$, *bcd*$^{+}$*/bcd*$^{+}$, *bcd*$^{+}$*/bcd*$^{+}$*/bcd*$^{+}$ (=*Dp bcd*$^{+}$)) (Fig.302b).

Als Donoren für die übrigen Experimente wurden Eier von *Dp bcd*$^{+}$-Weibchen verwendet. Anheben des transplantierten Zytoplasmavolumens in Schritten von 1:2:3 ergibt etwa denselben Anstieg in der Induktionsaktivität (Fig.302a) wie die Steigerung der Gen Dosis. Die Menge biologischer Aktivität im Ei ist offenbar annähernd proportional zur *bcd*$^{+}$ Gen Expression. Diese quantitative Beziehung legt nahe, daß die transplantierte Aktivität identisch mit dem *bcd*$^{+}$ Gen Produkt ist. Keine negative Rückkopplung scheint die Akkumulation des Produkts zu begrenzen.

1.2. Altersabhängigkeit (Fig.303)

Das Ausmaß der Normalisierung sinkt mit steigendem Alter von beiden, Donoren und Rezipienten. Unbefruchtete Eier enthalten das aktivste Zytoplasma; in Fig.303a repräsentieren sie das Stadium 1. Zytoplasma älterer Embryonen zeigt nur eine schwache Abnahme der *bcd*-abhängigen Aktivität bis zum Stadium beginnender Kernelongation, dann setzt ein abrupter Abfall der Aktivität ein (≈ 5h bei 18°C). In unbefruchteten Eiern dagegen bleibt die Aktivität für einen weit längeren Zeitraum erhalten (>7h bei 18°C). Die Fähigkeit der Empfänger, auf das transplantierte Zytoplasma zu reagieren, nimmt schon in frühen Stadien vor der Polzellbildung stark ab, aber es ist keine besondere Schwelle plötzlichen Abfalls zu erkennen (Fig.303b).

Ältere Rezipienten zeigen eine schwache Reaktion, insofern insgesamt nur wenige anteriore Strukturen induziert werden; diese schließen aber neben kleinen Thoraxfeldern häufig noch Reste von Kopfstrukturen mit ein (, Fig.303b). Der Induktionseffekt scheint auf einen engen Bereich begrenzt zu sein (die räumliche Ausbreitung des Induktionseffekts nimmt mit dem Alter stärker ab als Induktions-Intensität an der Injektionsstelle).

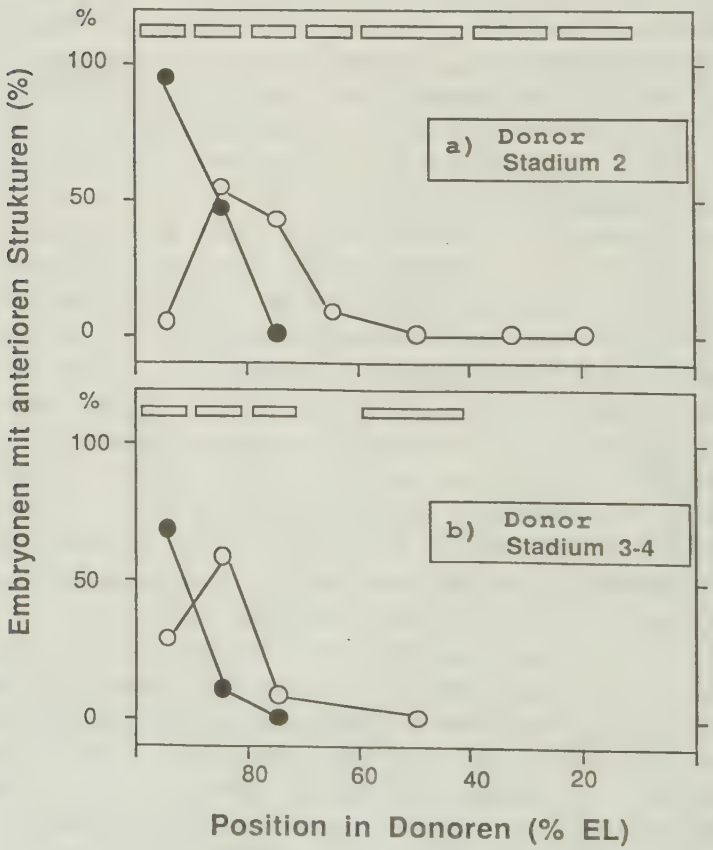
1.3. Positionsabhängigkeit in Donoren (Fig.304)

Um die Lokalisation der *bcd*-abhängigen Aktivität in *WT* Embryonen zu bestimmen, wurde Zytoplasma aus verschiedenen Positionen in

Fig.304 Positionsabhängigkeit in den Donoren

a: *Tpl: Dp bcd⁺ (x_1,UF) ---> bcd (85%EL,S2)*
b: *Tpl: Dp bcd⁺ (x_2,UF) ---> bcd (85%EL,S4)*
mit $x_{1/2}$: Zytoplasma aus den durch Balken in (a) und (b) markierten Regionen

Die bcd⁺ *abhängige anteriore Aktivität ist hauptsächlich im vorderen Fünftel des Eies konzentriert (a); in älteren Embryonen bleibt, bei einer generellen Reduktion der Aktivität, die anteriore Lokalisation erhalten (b).*



Abständen von 10% EL entlang der Längsachse des Eies entnommen. Fig.304a zeigt, daß mit zunehmenden Abstand vom anterioren Pol die Aktivität abnimmt, was eine graduierte Verteilung der *bcd*-abhängigen Faktoren im anterioren Drittel des Eies mit anteriorem Maximum nahelegt (gegebenenfalls mit Werten unterhalb der Sensitivitätsgrenze unseres Tests im Bereich dahinter). Andererseits liegt die räumliche Auflösung auf Streifen von 10% EL an der Grenze unserer Technik. Eine eher homogene Verteilung innerhalb der vorderen 15% des Eies könnte daher die Daten ebenso gut erkären.
Zwischen dorsalem und ventralem Zytoplasma traten keine Aktivitätsunterschiede auf. Geringfügige Unterschiede zwischen peripherem dotterarmen und zentralem dotterreichen Zytoplasma mögen technisch bedingt sein (niedrige Viskosität im zentralen Eibereich ermöglicht unkontrolliertes Zufließen von mehr posteriorem Zytoplasma). In älteren Eiern (Stadium 4a-c) bleibt bei generellerer Reduktion der Aktivität die vorherrschend anteriore Lokalisierung erhalten (Fig.304b).

1.4. Positionsabhängigkeit in Rezipienten (Fig.305)
Die Injektionsposition wurde entlang der anteroposterioren Eiachse variiert. In zwei experimentellen Serien wurden unterschiedliche Mengen an biologischer Aktivität transferiert, einerseits das Standardvolumen mit einem Verhältnis D/R=0,6 (Fig.305a), andererseits die 1,5 fache Menge mit D/R=1 (Fig.305b). Die Häufigkeit der Induktion anteriorer Strukturen nimmt mit den weiter hinten liegenden Injektionsstellen ab. Zugleich bedeutet die Induktion keine Normalisierung des Phänotyps mehr; anteriore Strukturen entstehen in heterotopen Positionen, während gleichzeitig abdominale Strukturen verdrängt werden. Abhängig von der Injektionsstelle entstehen charakteristische Phänotypen:

Anteriore Injektion: Auch anteriore Injektion (85% EL) führt zu Embryonen, die sich von den Phänotypen der allelischen Serie leicht unterscheiden. Ihre Kopfregion ist relativ zur induzierten Thoraxregion häufig recht schwach entwickelt (lokalisiertes Defektmuster). Ein möglicher Grund dafür ist, daß das transplantierte Material oft nicht ganz vorn in der anterioren Eispitze zu liegen kam, sondern sich um die Position 85% EL verteilte. Daraus würde folgen, daß die Verteilung von *bcd*-Aktivität die relative

Fig.305 Positionsabhängigkeit in den Rezipienten

Tpl: Dp bcd⁺ (ant.,UF) ⟶ bcd (85%.67%.50%.32%.15% EL, S2)

a: 1 x Standardvolumen; D/R≈0,6; d.h. das Zytoplasma eines Donors wird für etwa 2 Rezipienten verwendet.

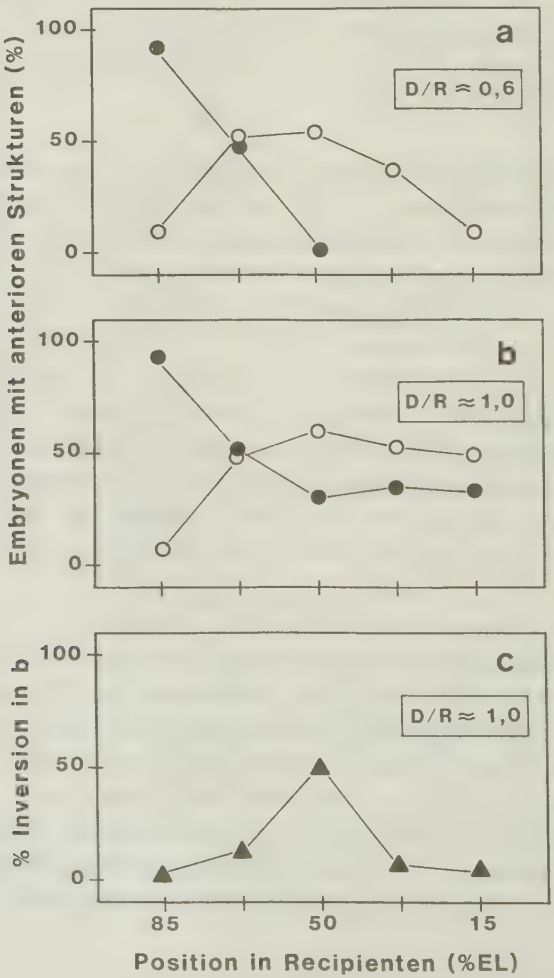
b: 1,5 x Standardvolumen; D/R≈1,0;

c: Auswertung der Embryonen von (b): Häufigkeit von Polaritätsumkehr innerhalb der induzierten anterioren Strukturen, d.h. innere Maxima anteriorer Positionswerte.

● starke Reaktion (Kopf und Thorax induziert)

○ schwache Reaktion (Thorax induziert)

Injektion in heterotopen Positionen kann zur völligen Umgestaltung der Polarität in den Rezipienten führen. Eine rein quantitative Auswertung zeigt, daß die Induktionseffizienz an den posterioren Positionen abnimmt (a). Mit Anheben der Menge transplantierten Zytoplasmas können jedoch auch an posterioren Injektionsstellen Kopfstrukturen induziert werden (b). Meist wird dabei die Polarität des gesamten Embryos umgedreht, und nur bei 50% EL treten innere anteriore Maxima mit Polaritätsinversion in der Kutikula gehäuft auf (c). Die durch schnittliche Anzahl von ausgewerteten Embryonen pro Meßpunkt ist 32.



Größe von Kopf und Thorax mitbestimmt.
Mit Injektionen bei 67% EL wird im wesentlichen dasselbe Spektrum von Phänotypen erzeugt wie nach der üblichen anterioren Injektion bei 85% EL. Gelegentlich treten Merkmale auf, die für die Injektionsposition 50% EL charakteristisch sind: Partielle Suppression des Abdomens (über das Ausmaß hinaus, das im starken *bcd*-Phänotyp gegeben ist) und Thoraxsegmente mit invertierter Polarität. Die Gastrulation injizierter Embryonen wurde nicht planmäßig verfolgt. Einige Embryonen zeigten aber eine nach hinten verschobene Kopffalte. Die Anlage der Kopfregion war also ensprechend dem Injektionsort nach hinten verschoben.

Mitte: Falls durch Injektion bei 50% EL Kopfstrukturen induziert werden, liegen diese meistens nicht am Vorderende des Embryos, sondern ähnlich wie in Fig.301c,e,g: Die Kopfstrukturen liegen mitten im Embryo (genauer: nicht-terminal), vorn und hinten flankiert von 2 Thoraxregionen entgegengesetzter Polarität. Am primären Hinterende schließt sich eine Abdominalregion an, die im Vergleich zum *bcd* Phenotyp stark reduziert ist. An den beiden Polen sitzt je ein Telson, Abdominalsegmente jedoch sind nie dupliziert. Offensichtlich hat sich ein anteriores Maximum nahe dem Injektionsort aufgebaut. Davon ausgehend erstrecken sich abfallende morphologische Werte zu beiden Polen. Die morphologische Längsachse der induzierten Kopfregion selbst liegt merkwürdigerweise senkrecht bzw. tangential zur Längsachse des Eies. Der anteriorste Punkt liegt dorsal bis lateral, jedoch nicht ventral; möglicherweise beruht das auf einer bevorzugt dorsalen Deponierung des injizierten Zytoplasmas. Die Tatsache jedoch, daß Achsen und Symmetrieverhältnisse am Übergang zwischen Kopf und Thorax abrupt wechseln, deuten darauf hin, daß dorsoventrale Positionsinformation für die Abgrenzung der Kopfsegmente (ab Labium) eine besondere Rolle spielt.
Die induzierte Kopfregion liegt nie vollkommen in der Mitte des Embryos, sondern ist zumindest etwas nach vorne gerückt, oft liegt sie sogar ganz am Vorderende, so daß im Embryo keine Polaritätsumkehr mehr zu finden ist. Außerdem bleibt der Thorax mit invertierter Polarität stets unvollständig. Die Asymmetrie im Embryo betrifft also nicht nur die zusätzlichen Abdominalsegmenten am primären Hinterende.

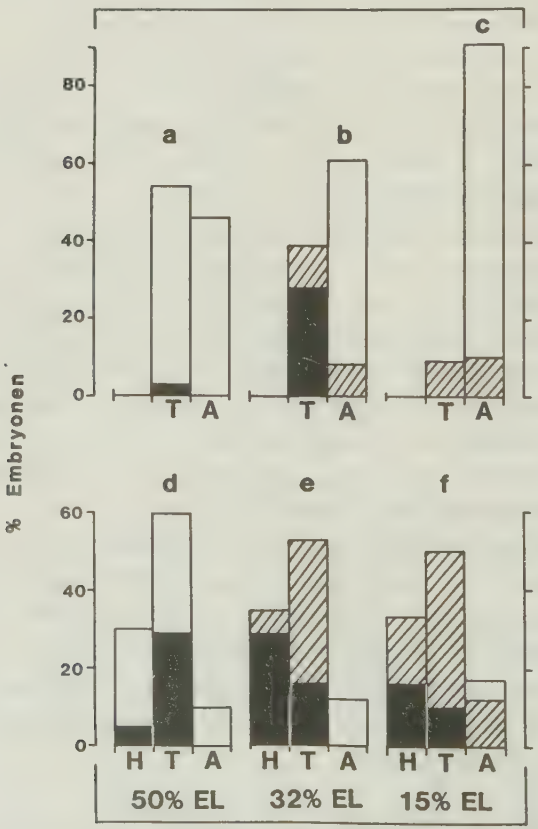
Posteriore Injektion: Injektionen bei 15% EL und 32% EL erzeugen

Fig.306 Abdomeneffekte bei posterioren Injektionsstellen

Das Experiment von Fig.305a & b ist hier so ausgewertet, daß die Beziehung zwischen der Induktion anteriorer Strukturen und der Suppression des Abdomens deutlich wird.

a,b,c 1 x Standardvolumen
d,e,f 1,5 x Standardvolumen
H Thorax und Kopf induziert
T Thorax induziert
A keine anterioren Strukturen induziert
■ Abdomen vollkommen unterdrückt (keine vDBAs)
▨ Invertierte abdominale Segmente vorhanden
□ Abdomen normal oder nur partiell unterdrückt
50%, 32%, 15% EL Injektionspositionen

Starke Suppression des Abdomens findet sich häufiger bei Injektion in die Region der abdominalen Anlagen (32% EL) als bei Injektion in die Nähe des Polplasmas (bei 15% EL). Inversion im Abdomen tritt nur an den beiden hinteren Injektionsstellen auf. Generell scheint das Abdomen umso stärker beeinflußt, je stärker der anteriore Induktionseffekt ausgeprägt ist. Ausnahmen könnten von der Verteilung des injizierten Materials abhängen; eine bestimmte transplantierte Zytoplasmamenge scheint bei breiter Verteilung das Abdomen zu unterdrücken und stattdessen überall Thorax zu induzieren, bei scharfer Lokalisation aber auch Kopfstrukturen zu induzieren, ohne das Abdomen vollkommen zu verdrängen [Siehe (d), 50% EL].



ein ähnliches Spektrum von Phänotypen. Wiederum können im Extremfall Kopfstrukturen induziert werden, die nun am Hinterende des Eies liegen, gefolgt von 3 Thoraxsegmenten, so daß der ganze Embryo invertiert in seiner Hülle liegt. Das Abdomen ist entweder vollständig supprimiert oder es bleibt lediglich ein abdominales Zähnchenfeld übrig. Vorne im Ei (hinten am Embryo) bleibt das Telson erhalten und auch am anderen Ende, terminal vom Kopf können Telsonstrukturen ausgebildet sein. Werden nur Thorakalsegmente induziert, bleibt häufig eine etwas größere Abdominalregion erhalten. In diesen Tieren haben stets diejenigen Abdominalsegmente, die an den Thorax grenzen, zusammen mit diesem eine invertierte Polarität. Fig.301d zeigt einen Embryo, in dem das anteriore Zytoplasma neben der Induktion thorakaler Zähnchenbänder die Umkehrung zweier Abdominalsegmente erzwang; das hintere von beiden besitzt die Qualität eines A1. Vorne ist spiegelverkehrt ein weiteres A1 in ursprünglicher Polarität erhalten. Da anteriores Zytoplasma von sich aus keine abdominale Entwicklung induzieren kann (siehe unten), muß es auf die Verteilung abdomenspezifischer Faktoren eingewirkt haben.

Vergleiche: a) Die Wirkung von *bcd*'-Aktivität in verschiedenen Eipositionen hängt von zwei räumlich verschieden organisierten Prinzipien ab. (1.) Die Induktion anteriorer Strukturen ist im posterioren Eibereich inhibiert (asymmetrischer Effekt) (Fig.305a). (2.) Anteriore Strukturen entwickeln sich vorzugsweise in den terminalen Regionen der injizierten Embryonen, auch nach nicht-terminaler Injektion (symmetrischer Effekt, Fig.305c). Nur bei Injektion in die Eimitte entstehen innere Maxima recht häufig .
Der posteriore Hemmeffekt läßt sich dem posterioren Polplasma zuordnen (siehe Abschn.III,1), seine Ausdehnung nach vorn ist aber nur schwer abzuschätzen. Mit großen transplantierten Mengen (D/R=1,0) verringert sich die relative Bedeutung der posterioren inhibierenden Wirkung, so daß die Unterschiede in den Induktionsfrequenzen zwischen den hinteren drei Injektionsstellen verschwinden, während die Effekte anterior in Sättigung gelangen. Eine mögliche Erklärung ist, daß die posteriore inhibierende Wirkung nach vorne monoton abfällt, in den anterioren Positionen zuerst wegtitriert ist, und so dort die verbleibenden Unterschiede (Differenz 85% EL-72% EL) auf dem symmetrischen Effekt beruhen. Zu berücksichtigen ist, daß mit zunehmendem transplan-

Fig. 307 Transplantation in *bcd*, Nebeneffekte auf das Abdomen.
Positionen in Donoren und Rezipienten: 15%,50%,85% EL (a,m,p)

Position	Effekt		Donor, Genotyp		
		bcd^{E1}/*bcd*^{E2}	*Df bcd/+*	*+/+*	*Dp bcd*$^{+}$
	Fig.307A				
a ---> a	8A		46% (67)	80% (31)	60% (52)
m ---> m	8A	3% (33)	47% (15)	77% (18)	84% (25)
a ---> m	8A	0% (15)			23% (31)
	Fig.307B				
p ---> a	8A	36% (25)	10% (10)		40% (38)
	U	53%	30%		26%
p ---> m	8A	38% (7)	66% (6)		48% (29)
	U	29%	17%		7%

		osk[UF]	*stau*[BF]	*tor*[BF]	*swa*[UF]	*exu*[UF]
	Fig.307C					
a ---> a	8A	80% (20)	82% (22)	70% (43)	33% (27)	32% (22)
a ---> m	8A	71% (7)			80% (5)	

UF = unbefruchtet
BF = befruchtet, Stadium2
() = Anzahl
8A = 8 abdominale Segmente
U = Anzeichen von abdominaler Inversion (siehe Text)

Datenmaterial und Genotypen in 307C sind identisch mit denen von Fig.309. Die Donoren in A und B sind teils unbefruchtet, teils S2.

Die Tabelle zeigt wie häufig bei Transplantation von Zytoplasma in bcd *Rezipienten die normale Segmentzahl (8A) wiederhergestellt wurde, und wie häufig Anzeichen abdominaler Umkehr auftraten (U).*

tierten Volumen die räumliche Auflösung abnimmt, da sich bei nicht-terminaler Injektion das injizierte Material in den Empfängern über ein Areal von >20% EL auszubreiten pflegt.
b) Fig.306 zeigt, daß mit Erhöhung des transplantierten Volumens gleichzeitig anteriore Induktion wie abdominale Suppression zunehmen. Die abdominale Suppression wirkt am stärksten bei 32% EL; die inhibierende Wirkung von *bcd* richtet sich daher nicht gegen das Polplasma, welches näher bei 15% EL liegt.

1.5. Nebeneffekte auf das Abdomen

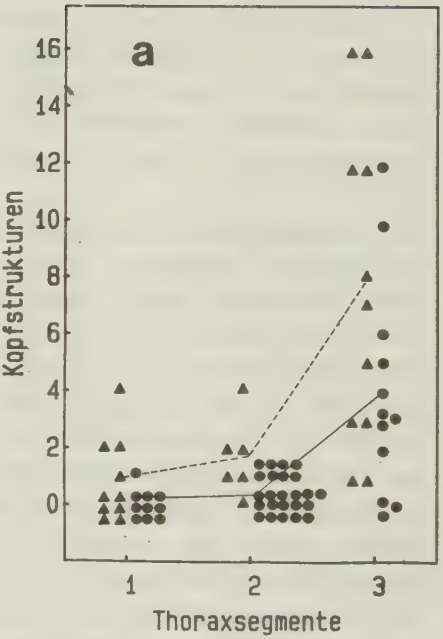
Injiziertes anteriores Zytoplasma kann die abdominalen Anlagen nach posterior verschieben und im Extremfall ihre Entwicklung vollkommen unterdrücken. Andererseits kann das Abdomen aber auch vollkommen normalisiert werden. Fig.307A gibt die Häufigkeit, mit der Embryonen in unterschiedlichen Experimenten die volle abdominale Segmentzahl acht erreichten. Die Aussagekraft der Ergebnisse ist eingeschränkt, da die phänotypischen Effekte schwach sind, und nur in der Frequenz, nicht aber in der phänotypischen Qualität deutlich außerhalb der temperaturabhängigen Variation des *bcd*-Phänotyps liegen.
Die Ergebnisse stehen in Übereinstimmung mit folgenden Annahmen:
(1) Die Wirkung auf das Abdomen wird von demselben (denselben) Faktor(en) ausgelöst wie die anteriore Induktion.
(2) Die Frequenz der Normalisierung im Abdomen steigt zunächst mit der Menge transplantierter *bcd*-abhängiger Aktivität an, stagniert dann und beginnt wieder zu sinken. Bei einer großen Menge von *bcd*' beginnt also der Suppressionseffekt zu überwiegen.
(3) Sowohl der positive, als auch der negative Effekt auf das Abdomen wirken sich bei Injektion nach 50% EL deutlicher aus als bei Injektion nach anterior.
Komplikationen treten bei Transplantation von posteriorem Zytoplasma auf (Fig.307B). Auch posteriores Zytoplasma aus *bcd* Eiern erhöht die Häufigkeit von Embryonen mit 8 Abdominalsegmenten. Zugleich treten Embryonen mit (zumindest partiell) invertierten Abdominalsegementen auf, die die Wirkung abdomenspezifischer Faktoren anzeigen (Abschnitt II-2). Ein anderer Posteriorisierungseffekt betrifft nur die Segmentqualität: Das vorderste Abdominalsegment hat häufig die Qualität eines nicht-A1, während unbehandelte Embryonen zwar auch nur selten eine klare A1 Morphologie zeigen, aber doch keine distinkten nicht-A1 Merkmale aufweisen (ausgeprägt trapezoide Form, Zähnchenreihen Nr.1 & 4

Fig.308 Verteilung transplantierter Aktivität

Tpl: Dp bcd⁺ (ant.,UF) ⟶ bcd (95%&75%&55%EL,S2)
⟶ bcd (90%EL,S2)

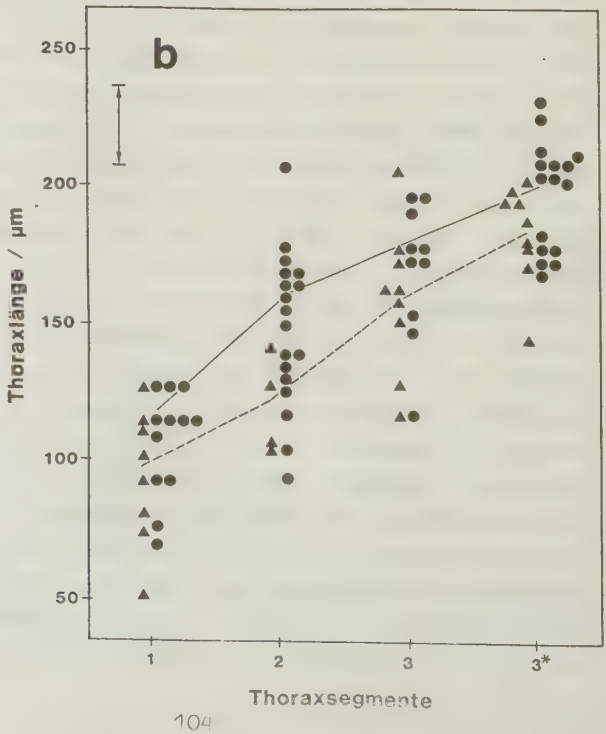
Das injizierte Zytoplasma wurde entweder in drei Portionen über die vordere Eihälfte verteilt (●,jeder Punkt ein Embryo), in einer anderen Gruppe von Embryonen nur in der vorderen Eispitze deponiert (▲). Das transplantierte Volumen war in beiden Fällen etwa gleich viel - etwas weniger als das Standardvolumen.

Thoraxsegmente 1,2,3: Anzahl unvollständiger vDB^T's
3*: 3 vollständige vDB^T's
Thoraxlänge/µm: Absolute Länge der Thoraxregion im Kutikulapräparat
Kopfstrukturen: Der Umfang der Kopfregion wurde durch Abzählen von Einzelelementen erfaßt; vollständig differenzierte Elemente zählten 2 Punkte, unvollständige nur einen Punkt. Gewertet wurden antso, mxso, cir und mh.
Pfeil links oben in (b): Variation der Thoraxgröße in Wildtyp Embryonen.
Mittelwerte von (●)
Mittelwerte von (▲)



a) Strikt anterior lokalisiertes Zytoplasma führt dazu, daß die Kopfstrukturen im Vergleich zu den Thoraxstrukturen relativ stark entwickelt sind.

b) Über die anteriore Eihälfte verteiltes Zytoplasma tendiert dazu bei gegebener Thoraxgröße weniger Thoraxbänder zu induzieren als strikt anterior deponiertes Material.



mit invertierter Polarität). Auch bei Embryonen mit 8 Abdominalsegmenten hat das vorderste oft keine A1 Qualität (siehe C-II-2, Fig.313c).

2. Verteilung der *bcd* Aktivität

Menge und Position von *bcd*$^+$-abhängiger Aktivität bestimmen Größe und Polarität der Kopf-Thorax-Region. Embryonen mit unterschiedlich scharf lokalisiertem Defektmuster, wie sie z.B. in unterschiedlichen *bcd* Allelen oder nach Injektion in verschieden alte Empfänger gefunden werden können, deuten darauf hin, daß *bcd* die innere Organisation der anterioren Region mitbestimmt und nicht nur deren äußere Grenzen festlegt. Injizierte Embryonen zeigen ein schärfer lokalisiertes Defektmuster als Embryonen der phänotypischen Serie (Abschn.1.4.), und es liegt nahe, den phänotypischen Unterschied durch unterschiedliche Verteilungen von *bcd*$^+$-Aktivität zu erklären. Im folgenden Experiment werden unterschiedliche Verteilungen direkt durch Injektion hergestellt. Anders als in den vorherigen Experimenten wurde die Nadel vom posterioren Pol aus in den Embryo eingeführt; dadurch ist es leichter möglich, das transplantierte Zytoplasma genau in der anterioren Spitze des Eies abzuladen; in dieser Serie konnten sehr viel öfter Embryonen mit Labralsklerit gefunden werden, als in den Tieren von Abschnitt I-1. Entweder wurde Zytoplasma zu drei etwa gleich großen Portionen an drei Punkten über die vordere Eihälfte eines Embryos verteilt abgelagert (95% EL, 75% EL, 55% EL), oder eine dreifache Portion wurde an einen Punkt an der Spitze (90% EL) transplantiert. Die Menge transplantierten Zytoplasmas ist für die Auswertung kein wichtiger Parameter; ich versuchte sie so einzustellen, daß die Embryonen mit einer schwachen bis mittelstarken phänotypischen Normalisierung antworteten. Die Auswertung erfolgte auf zweierlei Weise.

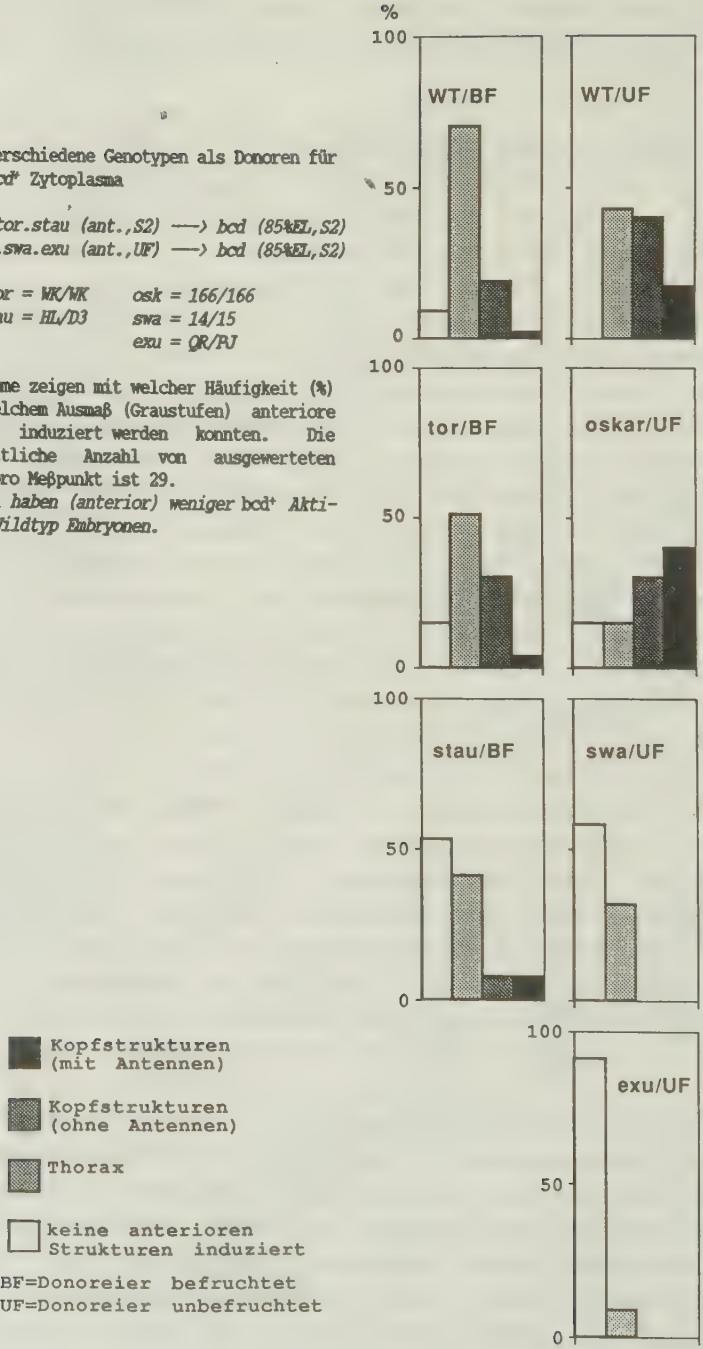
Fig.308A, Korrelation Kopf-Thorax: In dem Diagramm sind nur die Fälle berücksichtigt, in denen die Restitution des Thoraxes nicht vollständig war. Ein Maß für die Ausprägung der Kopfstrukturen des Maxillen-Antennen-Bereichs ergibt sich durch Abzählen differenzierter Einzel-Strukturen (Legende Fig.308A). Die Anzahl der vorhandenen (aber nicht vollständig ausgebildeten) vDB^T's gibt das Maß für die Thoraxstrukturen. Die flache Verteilung von *bcd*$^+$ Aktivität, die durch die Dreipunkt-Injektion hergestellt wird, induziert zu einer bestimmten Anzahl von Thoraxstrukturen

Fig.309 Verschiedene Genotypen als Donoren für *bcd*⁺ Zytoplasma

Tpl: WT.tor.stau (ant.,S2) ⟶ bcd (85%EL,S2)
WT.osk.swa.exu (ant.,UF) ⟶ bcd (85%EL,S2)

mit: *tor = WK/WK* *osk = 166/166*
stau = HL/D3 *swa = 14/15*
exu = QR/PJ

Die Diagramme zeigen mit welcher Häufigkeit (%) und in welchem Ausmaß (Graustufen) anteriore Strukturen induziert werden konnten. Die durchschnittliche Anzahl von ausgewerteten Embryonen pro Meßpunkt ist 29.
exu und swa haben (anterior) weniger bcd⁺ Aktivität als Wildtyp Embryonen.



durchschnittlich weniger Elemente im Kopfbereich (lokalisiertes Defektmuster) als strikt anterior deponierte Aktivität.

Fig.308B, Korrelation Thoraxlänge-Thoraxstrukturen: Die zweite Auswertung beruht auf der Annahme, daß die geometrische Länge, die am Kutikulapräparat als Thorax abgemessen werden kann, ein Maß für die Größe der blastodermalen Thoraxanlage ist, während die Anzahl der thorakalen Strukturen von zusätzlichen Faktoren abhängt. Unter dieser Voraussetzung zeigt Fig.308B, daß sich bei flacher Verteilung von *bcd* weniger Strukturen in einer Thoraxanlage gegebener Größe differenzieren können. Dies stimmt mit der Vorstellung überein, daß die Spezifizierung zu Thorax mit einer bestimmten Mindestkonzentration an bcd⁺-Aktivität erreicht wird, während die Segmentierung dieser Region darüberhinaus ein ausreichendes Konzentrationsgefälle benötigt.

3. Donoren unterschiedlichen Genotyps (Fig.309)

Defekte in der Kopfregion sind die phänotypische Gemeinsamkeit von *bcd*^{w}, *exu*, *stau*, *swa* und Mutanten der *torso*-Gruppe. Die Beziehung der Phänotypen zur *bcd*-abhängigen Zytoplasmaaktivität läßt sich durch Verwendung der entsprechenden Mutanten als Donoren aufklären. Mituntersucht in der Serie wurden *osk* Embryonen, bei denen das Vorderende normal aussieht; sie verhalten sich als Donoren für anteriore Zytoplasmaaktivität etwa wie *WT* Embryonen. Entsprechend den Defekten in der Kutikula ist in Mutanten von *swa* und *exu* eine reduzierte Menge anterioren Zytoplasmas zu finden. Die Ergebnisse in *stau* sind nicht eindeutig. In *tor* Embryonen fehlt die Korrelation zwischen Kopfdefekt und Zytoplasmaktivität. In ihnen scheint genausoviel *bcd*⁺-Aktivität enthalten zu sein wie *in WT* Donoren (wenigstens am anterioren Ende des Eies).

4. Entfernen von Zytoplasma

4.1. Reaktion von Wildtyp und *bcd* (Fig.310)

bcd Embryonen können durch Injektion anterioren *WT*-Zytoplasmas normalisiert werden. Umgekehrt können durch Entfernen von anteriorem Zytoplasma *bcd* Phänokopien in *WT*-Embryonen erzeugt werden. Wenn ungetrocknete *WT*-Eier (Stadium 2) am anterioren Pol angestochen werden, laufen ungefähr 5% des Eivolumens am Vorderende aus. Daraus entwickeln sich Tiere mit Kopfdefekten wie sie für schwache *bcd*-Phänotypen typisch sind (Fig.310a). Werden mutante Embryonen, in denen die *bcd*⁺-Aktivität bereits verringert

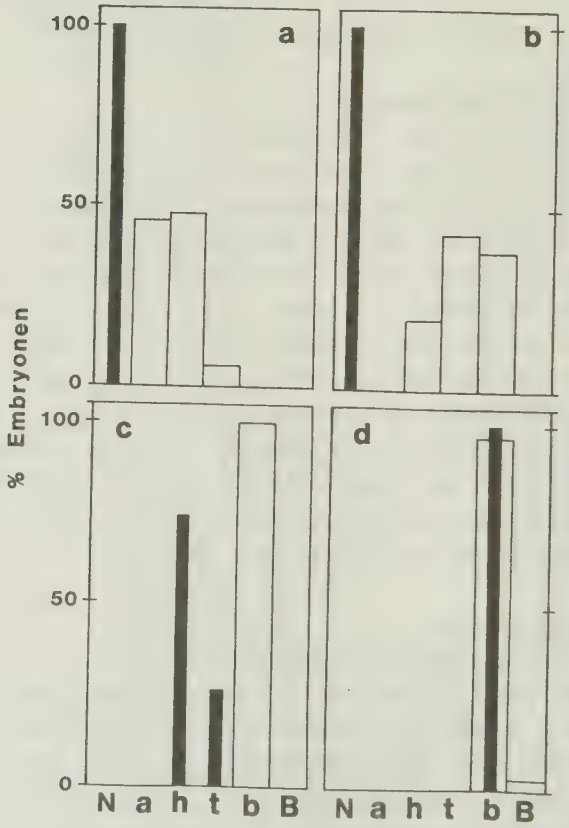
Fig.310 Erzeugung von *bcd* Phänokopien durch Entfernen von anteriorem Zytoplasma

Maternaler Genotyp der behandelten Eier:
a) *Wildtyp* b) $bcd^{Df\ 9A99}/+$
c) bcd^{E3}/bcd^{E3} d) bcd^{E1}/bcd^{E1}

Phänotypen: N normal B bicaudale Embryonen
a Antenne noch vorhanden t Thorax noch vorhanden
h Kopfreste noch vorhanden b Kopf und Thorax fehlt

Offene Säulen: Behandelte Tiere Schwarze Balken: Kontrolltiere

Die Eier wurden, ohne vorher getrocknet zu werden anterior angestochen, so daß etwa 5% des Eiinhaltes ausfließen konnten. Der Verlust anterioren Zytoplasmas verursacht eine Verstärkung der *bcd* Phänotypen. Für jeden Genotyp wurden etwa 35 Embryonen ausgewertet.



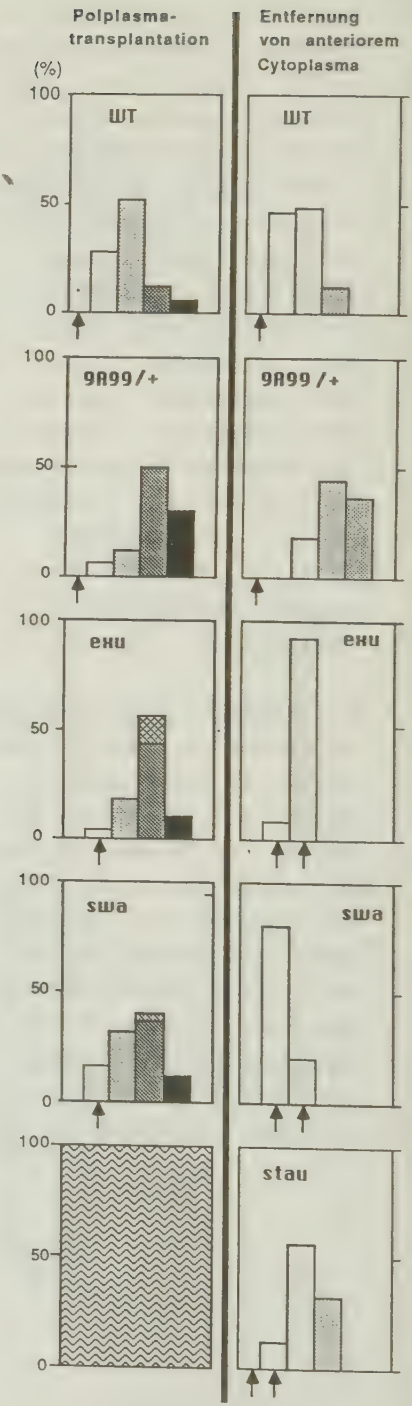
ist (*Df bcd⁻/+*, *bcd^{E3}/bcd^{E3}*), in gleicher Weise behandelt, entstehen stärkere Phänokopien, und es kann zum vollständigen Ausfall aller Kopf- und Thoraxstrukturen kommen (Fig.310b,c). Daneben treten auch die zum *bcd*-Phänotyp gehörenden abdominalen Segmentierungsstörungen auf; demzufolge nimmt auch die *bcd⁺*-Wirkung auf das Abdomen von der anterior lokalisierten Aktivität ihren Ausgang. Stark mutante Embryonen (*bcd^{E1}/bcd^{E2}*) zeigen praktisch keine Reaktion mehr auf den Verlust anterioren Zytoplasmas; lediglich in einem Fall entwickelte sich ein Embryo mit bicaudalem Phänotyp (Fig.310d).

Kontrollversuche in *WT*: Auslaufen von posteriorem Zytoplasma (einschließlich Polplasma) ergibt schwache *oskar* Phänokopien (Abdomendefekte) (Lehmann 85). Der Verlust von nicht-terminalem Zytoplasma verursacht dagegen keine Deletionen im Muster. Allenfalls finden sich Segmentierungsstörungen wie spiraliges Verwachsen der Segmentbänder. In älteren Embryonen (Stadium 5) führt Anstechen zum Verlust von Zellkernen und in Folge zu anlageplanmäßigen Musterdefekten in allen anteroposterioren Positionen (Daten nicht gezeigt, Underwood et al. 1980).

4.2. Reaktion anderer Genotypen (Fig.311, rechte Spalte)

Die Mutanten *stau*, *swa*, *exu* zeigen Kopfdefekte, und ihr anteriores Zytoplasma enthält reduzierte *bcd⁺*-Aktivität. Auf den Verlust von anteriorem Zytoplasma im Anstechversuch reagieren sie jedoch vollkommen anders als schwache *bcd* Mutanten, bzw. Nachkommen von Defizienz-heterozygoten *Df(3R)9A99,bcd⁻/+* Tieren. *exu* und *swa* Mutanten reagieren nicht oder nur ganz marginal mit einer Verstärkung des Phänotyps. Der Vergleich mit den *WT* Embryonen zeigt, daß die Mutanten nicht nur keine erhöhte Sensitivität gegen den Verlust anterioren Zytoplasmas aufweisen, sondern sogar besonders resistent gegen diese Art von Behandlung geworden sind. *stau* zeigt dieses Verhalten weniger deutlich; immerhin reagiert *stau* deutlich schwächer als *bcd$^{Df\ 9A99}$/+*.

Fig.311 Verlust, Hemmung und Überkompensation der anterioren Zytoplasmaaktivität



Polplasmatransplantation

Tpl: WT(0%EL,UF) ⟶ WT.bcd⁺/+.exu.swa(90%EL,S2)
mit: *bcd⁺=Df(3R)9A99 exu=QR/PJ swa=14/15*

Für jeden Genotyp konnten im Durchschnitt 32 Embryonen ausgewertet werden; die bicaudalen Phänotypen sind in Fig.316 genauer beschrieben.

Kopf reduziert
keine Kopfstrukturen
asymmtr. bicaudal
symmetr. bicaudal
Inversion im Thorax
Phänotyp der Kontrolltiere

Entfernung von anteriorem Zytoplasma

Nicht-getrocknete Embryonen wurden am Vorderende angestochen, so daß anteriores Zytoplasma auslaufen konnte. Für jeden Genotyp konnten im Durchschnitt 35 Embryonen ausgewertet werden. (Verwendeten Allele wie in Fig.309).

Kopf schwach reduziert
Kopf stark reduziert
keine Kopfstrukturen
z.B. tel-1T-7A-Tel
keine Thoraxstrukturen
z.B. tel--7A-Tel
Phänotyp der Kontrolltiere

Der Verlust von anteriorem Zytoplasma führt zum Verlust anteriorer Strukturen; exu und swa Embryonen aber reagieren nicht (erkennbar) auf diese Behandlung. Transplantation von Polplasma an das Vorderende kann darüberhinaus invertierte abdominale Strukturen erzeugen. In diesem Versuch reagieren auch exu und swa sensitiver als WT.

In *osk* Embryonen fehlen posteriores Polplasma und Abdomen. Durch Injektion von Polplasma aus *WT* Eiern in den prospektiven Abdominalbereich mutanter Embryonen wird die Fähigkeit, Abdomen auszubilden wiederhergestellt (Lehmann 85, Lehmann und Nüsslein-Volhard 86). Heterotope Transplantation von posteriorem Polplasma an das Vorderende von *bcd* Embryonen induziert dagegen ein zweites invertiertes Abdomen am Vorderende. Diese Beobachtung initiierte Transplantationsserien mit verschiedenen Genotypen als Donoren und Rezipienten, um die heterotope Induktion eines Abdomens durch Polplasma weiter zu kennzeichnen. Die Experimente zur Restitution des Abdomens hatten nahegelegt, daß die Verteilung biologischer Aktivität dem morphologisch erkennbaren Polplasma entspricht (Lehmann 85) und damit einen viel kleineren Raum einnimmt als die *bcd*-abhängige anteriore Aktivität. Entsprechend konnte mit geringem Transplantationsvolumen pro Empfänger gearbeitet werden, nur mit etwa 1/10 der Menge anterioren Zytoplasmas.

1. Heterotope Transplantation von Polplasma in *bcd* Embryonen

Abhängig von der Menge transplantierten Polplasmas, d.h. dem Verhältnis von Donoren zu bedienten Rezipienten, werden invertierte abdominale Regionen unterschiedlicher Größe induziert (Fig.312A,rechts). Bei geringer Transplantationsmenge treten überwiegend asymmetrisch bicaudale Phänotypen auf. Mit Steigerung des Verhältnisses D/R wächst die Segmentzahl im duplizierten Abdomen, so daß sich das phänotypische Spektrum zu symmetrischen Formen verschiebt. Innerhalb der Klasse der symmetrisch bicaudalen Embryonen, ergibt sich mit steigendem D/R eine Abnahme der duplizierten abdominalen Segmentzahl. Daraus läßt sich eine experimentell erzeugte phänotypische Serie für bicaudale Embryonen ableiten, die das typische morphologische Ergebnis bei steigender Induktionskraft, beschreibt:

	asymmetrisch	asymmetrisch	symmetrisch	symmetr.
bcd -->	wenige inver=	--> viele inv.	--> viele	--> wenige
	tierte Segmente	Segmente	Segmente	Segmente

Schwache Induktionswirkung und die zugehörigen Phänotypen treten auch bei Transplantation von subterminalem posterioren Zytoplasma (siehe unten) und bei zunehmenden Alter der Empfänger auf. Fig.312A (links) zeigt, daß die Induktionswirkung in Embryonen

Fig.312 A Induktion von Bicaudalen in *bcd* (Darstellung 1)

Tpl: Dp bcd⁺.WT.bcd (0%EL,UF.S2) ⟶ *bcd (90%EL,S2)* (rechts)
⟶ *bcd (90%EL,S3.S4ab.S4c)* (links)
mit *bcd = bcd^F1/bcd^F2*

Durch Transplantation von posteriorem Polplasma lassen sich invertierte Abdominalsegmente am Vorderende von *bcd* Embryonen induzieren. Häufigkeit und Größe der duplizierten abdominalen Region hängen von der Menge transplantierten Polplasmas (rechts) und dem Alter der Rezipienten (links, hier: D/R=1) ab.

a) Häufigkeit der Induktion von bicaudalen Embronen:
gesamt = Häufigkeit von bicaudalen überhaupt
symmetrisch = Häufigkeit von symmetrisch bicaudalen

b) Durchschnittliche Anzahl abdominaler Segmente in den Embryonen:
asy = Anzahl bei asymmetrisch bicaudalen im duplizierten und im primären Teilabdomen
sy = Anzahl bei symmetrisch bicaudalen in einem der beiden Teilabdomina

Donorgenotypen mit unterschiedlicher *bcd⁺* Kopienzahl ergaben im wesentlichen die selben Ergebnisse und wurden meist nicht getrennt aufgeführt:
○ Donoren sind *Dp bcd⁺, WT oder bcd*

Wo immer aber kleine Differenzen auftreten, erweist sich das Polplasma aus *bcd* Embryonen als etwas effektiver:
□ Donoren sind *Dp bcd⁺ oder WT*
+ Donoren sind *bcd*

Dasselbe Experiment ist in Fig.312B in anderer Form dargestellt.

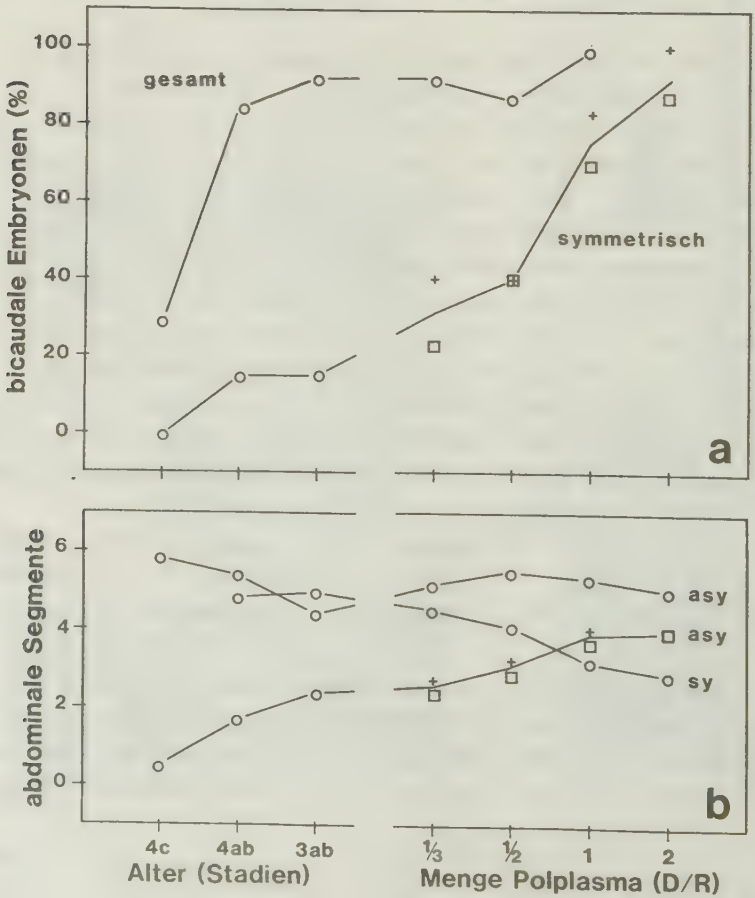


Fig.312 B Induktion von bicaudalen Embryonen in *bcd* (Darstellung 2)

Jeder Punkt repräsentiert den Phänotyp eines Embryos. Symmetrisch bicaudale Embryonene kommen auf der Diagonale zu liegen, asymmetrische (primäres Abdomen > induziertes Abdomen) darunter.

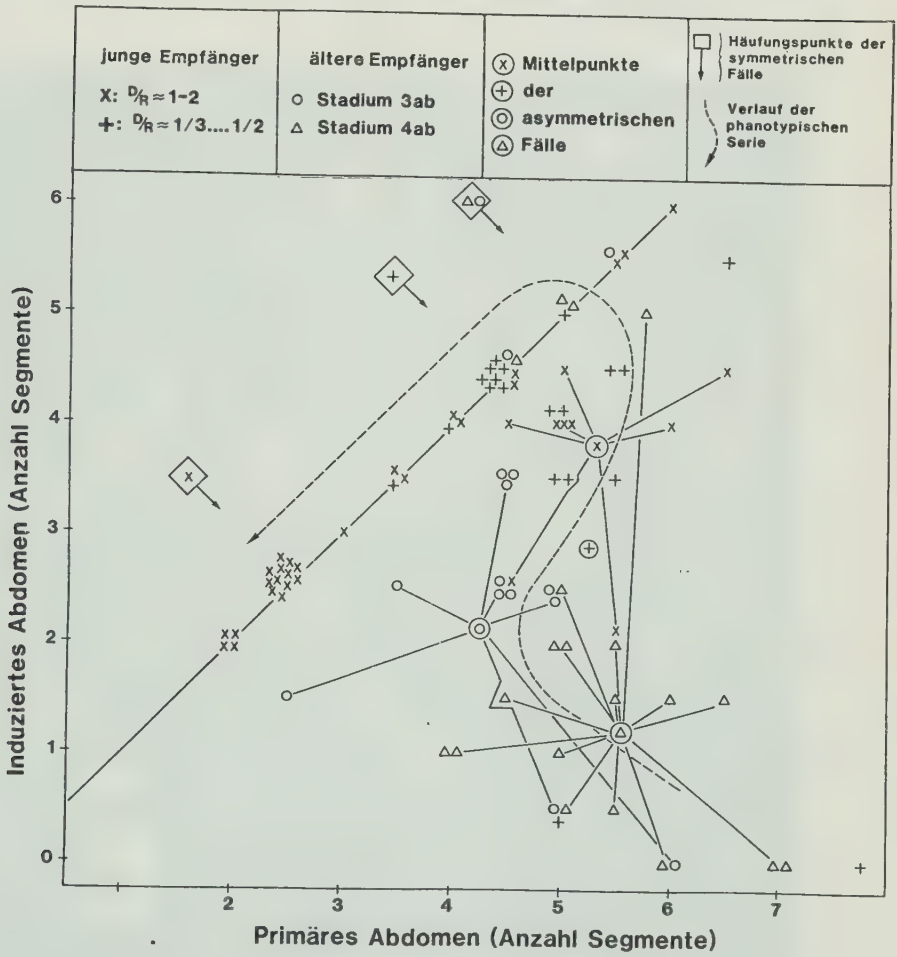
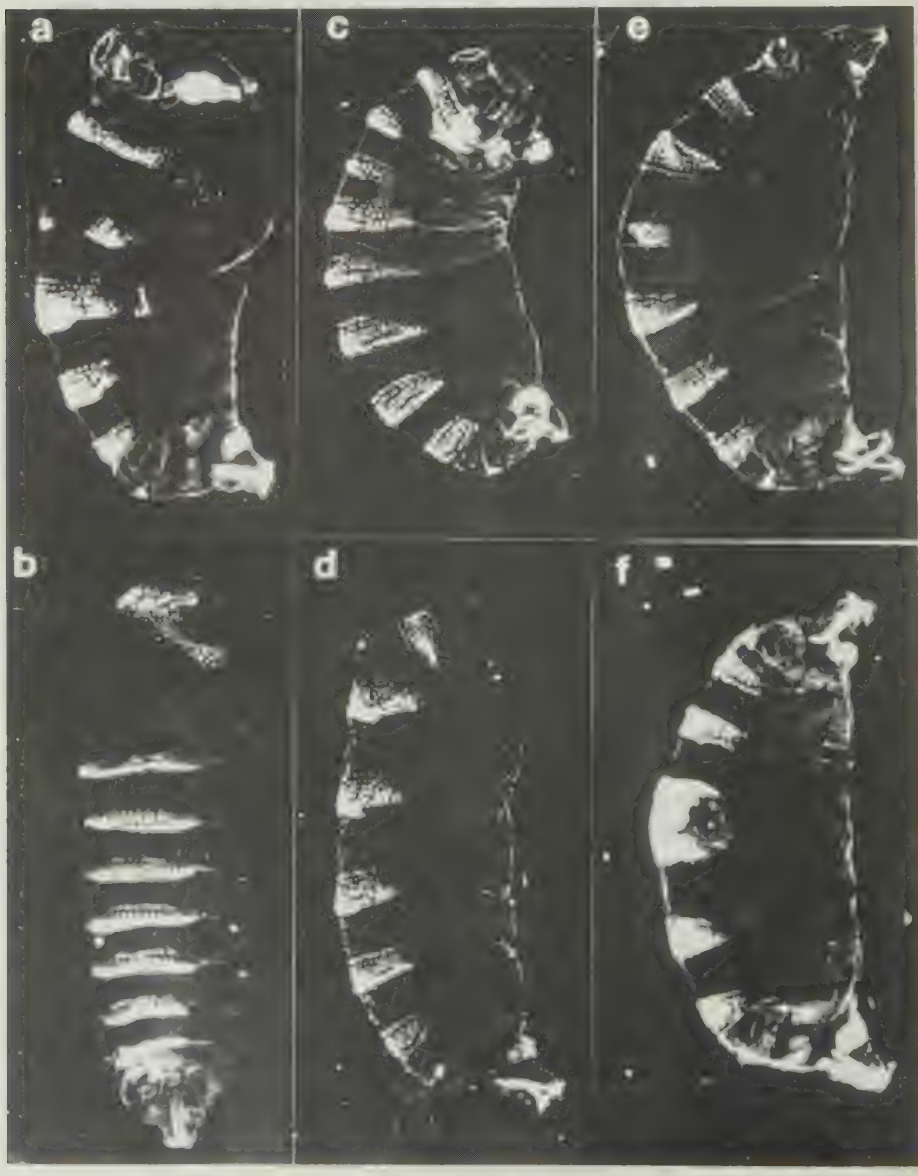


Fig.313 Abdominalisierung am Vorderende
Injektion von Zytoplasma aus *Wildtyp* an das anteriore Ende von Rezipienten unterschiedlichen Genotyps:

	a)	b)	c)	d)	e)	f)
Rezipient:	*bcd*	*swa*	*bcd*	*bcd*	*bcd*	*WT*
Donorzytopl. von:	60% EL	0% EL	40% EL	40% EL	0% EL	0% EL

a) Kein klarer Effekt; vielleicht eine Normalisierung des A1.
b) Inversion im Thorax, invertiertes A1.
c) Das erste abdominale Segment hat nicht die Qualität eines A1, obwohl 8 Abdominalsegmente ausgebildet sind.
d,e,f) Invertierte abdominale Segmente



nach der Polzellbildung stark abgeschwächt und bis zu Beginn der Zellularisierung gänzlich verschwunden ist.

In Fig.312B sind die Daten aus Fig.312A in anderer Form aufgetragen. Die Fläche des Diagramms repräsentiert alle möglichen bicaudalen Phänotypen, jeder markierte Punkt einen Embryo. Die gestrichelte Linie zieht die postulierte phänotypische Reihe nach. Punktscharen, die aus einem bestimmten Injektionsprotokoll hervorgegangen sind, sollten zusammenhängende Gebiete entlang der gestrichelten Linie besiedeln.

In 4 Fällen wurde Polplasma in die Mitte der Embryonen injiziert, 4 mal mit demselben Ergebnis. Die Embryonen entwickelten einen extrem kurzen bicaudalen Phänotyp mit der Modifikation, daß das letzte vor dem duplizierten Telson liegende Zähnchenband (A8) nicht ausgebildet war, sondern stattdessen nur eine nackte Kutikularegion bestehen blieb:

Tpl: bcd.WT (0%EL,S2) --> bcd(50%EL,S2) ==> Tel-2,5A-1,5A-R-Tel

R = nackte Kutikulazone (manchmal mit schlecht differenzierten Zähnchen)

2. Nicht-terminales posteriores Zytoplasma (Fig.314)

Auch nicht-terminales posteriores Zytoplasma von 15% EL vermag nach anteriorer Injektion in *bcd* Umkehr abdominaler Strukturen zu erzeugen (Fig.307B). Neben der Induktion invertierter abdominaler Segmente (vDB's) treten andere (schwächere) Effekte auf, die ebenfalls als Folge einer Posteriorisierung angesehen werden können: (1.) Embryonen mit gestreckten Filzkörpern. (2.) Embryonen, deren vorderstes Abdominalsegment nicht die Qualität eines A1 hat. Embryonen mit unterschiedlichen Abdominalisierungseffekten am anterioren Ende sind in Fig.313c-f gezeigt.

Wie schon in Fig.307, sollen Donoren mit unterschiedlicher *bcd*'-Aktivität auf ihre abdominale Aktivität getestet werden. Zytoplasma wurde aus den Donor-Positionen 20%, 40% und 60% EL entnommen. Als "Wildtyp" Donoren wurden alle Genotypen mit wenigstens einer *bcd*' Kopie zusammengefaßt. Die Daten scheinen zu bestätigen, daß Donoren ohne *bcd*'-Aktivität eine erhöhte Menge an abdominaler Aktivität enthalten (Fig.314).

Es mußten recht große Volumina von nicht-terminalem Zytoplasma transferiert werden (≈ 1,5x Standard für anteriores Zytoplasma), um sichtbare Effekte zu erzeugen. Es ist nicht vollkommen aus-

Fig.314 Nicht-terminale abdominale Aktivität in *WT* und *bcd*

Tpl: $bcd^{S}.bcd^{z1+}$(20%.40%.60%EL,S2.UF) --> bcd^{S}(15%EL,S2)
mit bcd^{S} = bcd^{E1}/bcd^{E2}

	20% EL	40% EL	60% EL	
Donoren:	43%	10%	0%	U
bcd^{E1}/bcd^{E2}	7%	10%	0%	∦fk
	15%	10%	0%	≠A1
	37%	70%	100%	normal
	27	30	8	Anzahl

	20% EL	40% EL	50% EL	
Donoren:	20%	7%	0%	U
$bcd^{Df9A99}/+$,	10%	7%	0%	∦fk
WT oder	27%	14%	0%	≠A1
Dp bcd^{+}	41%	53%	100%	normal
	41	15	9	Anzahl

U : Umkehr von vDB^'s
∦fk : Filzkörper gestreckt
≠A1 : erstes Segment im Abdomen hat keine A1 Qualität
normal : nicht deutlich veränderter *bcd*-Phänotyp
Die Tabelle schließt z.T. die Daten von Fig.307B mit ein (15% ≈ 20%EL).

Fig. 315 Verteilung abdominaler Aktivität in *pum* und *swa*
Tpl: pum.WT.swa (0%.20%.40% EL,UF) —› bcdE1/E2 (85%EL,S2)
Die Tabelle gibt die Anzahl der Embryonen (n), den Anteil, der sich zu symmetrisch und asymmetrisch bicaudalen Embryonen entwickelt hat (%). Die Zeile "Segmente" gibt die durchschnittliche Anzahl abdominaler Segemente, wobei das Divisionszeichen die Umkehrebene angibt (z.B. 2,5:2,5 = Tel-2,5Ā-2,5Ā-Tel).

Genotyp der Donoren	Entnahmeposition im Donor-Embryo: 0% EL			20% EL			40% EL			
	symmetrisch	asymm.	n	symmetrisch	asymm.	n	symmetrisch	asymm.	n	Bicaudal-Typ
pumilio 680	100%	0%	10	37%	42%	17	0%	0%	10	% Embryos
	2,9:2,9	-		2,5:2,5	3,9:2,0		-	-		Segmente
Wildtyp	80%	20%	17	19%	41%	37	0%	45%	11	% Embryos
	3,1:3,1	-		2,9:2,9	3,9:1,5		-	5,0:1,29		Segmente
swallow 1497/1502	86%	14%	15	5%	70%	20	0%	83%	6	% Embryos
	3,4:3,4	-		3,5:3,5	4,6:1,6		-	6,0:1,2		Segmente

Mit swa-Zytoplasma induzierte bicaudale Embryonen zeigen im Mittel eine große Anzahl von abdominalen Segmenten und tendieren zu starker Asymmetrie. Dies kann durch (in swa posterior lokalisierte und daher) mittransplantierte bcd⁺-Aktivität bedingt sein. Denkbar ist auch, daß die polplasmaabhängige Aktivität posterior erniedrigt ist, ihre Verteilung in swa Embryonen also insgesamt abgeflacht ist. Ähnliche Interpretationsprobleme treten bei Experimenten mit exu auf (D-III-2).

zuschließen, daß die Zytoplasmafraktion von 20% EL gelegentlich Anteile von Polplasma enthalten hat. Da aber auch Material von 40% EL noch invertiertes Abdomen induzieren kann, ist die biologische Aktivität sicherlich nicht nur auf das Polplasma beschränkt. Außerdem würden Polplasmaanteile (aufgrund hoher Viskosität) vermutlich einen starken Effekt in wenigen Embryonen, und nicht einen schwachen Effekt in relativ vielen Embryonen hervorrufen. Ein Vergleich der relativen Effizienz ergibt, daß das Polplasma grob 30x aktiver als das präterminale Zytoplasma ist.

3. Donoren unterschiedlichen Genotyps

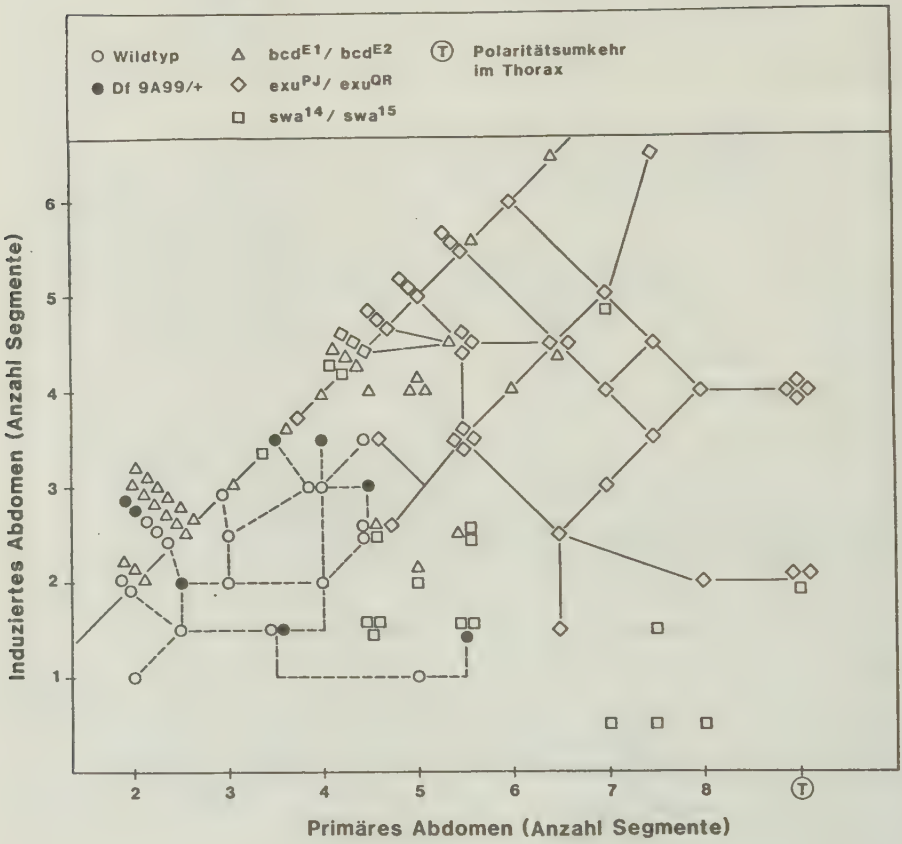
Zytoplasma vom posterioren Pol von *osk* induziert kein invertiertes Abdomen (21 injizierte Embryonen). Die übrigen getesteten Genotypen *bcd*, *exu*, swa und *pumilio (pum)* besitzen alle Polplasma-Aktivität; dasselbe gilt für *tsl* (Lehmann 85). *pum* Embryonen besitzen Polplasma und machen Polzellen, zeigen aber einen *osk*-Phänotyp, insofern ihnen ein Abdomen fehlt. Transplantiertes pumilio-Polplasma normalisiert den Abdomendefekt sowohl in *osk* Embryonen wie auch in *pumilio* selbst (Lehmann 85); damit erscheint in *pumilio* die Ausbreitung der abdomenformenden Wirkung vom Polplasma in die prospektive abdominale Region gestört.

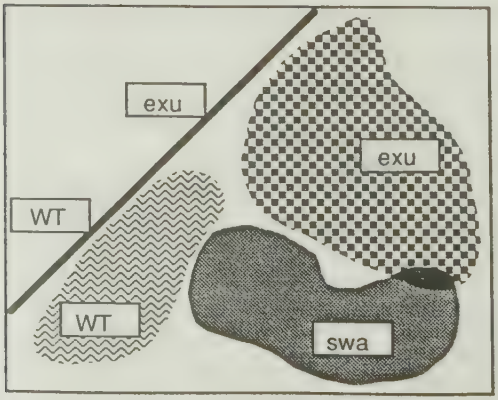
Nicht-terminales Zytoplasma: In Fig.315 spiegelt sich die Menge transplantierter abdominaler Aktivität aus verschiedenen Donor-Positionen auf zweierlei Weise wieder; erstens in der Häufigkeit invertierter abdominaler Segmente und zweitens im Grad der Symmetrie der induzierten bicaudalen Phänotypen. Nach beiden Kriterien ist die abdominale Aktivität in pumilio am posterioren Pol konzentriert. Im Vergleich zum Wildtyp ist sie erhöht bei 20%EL und erniedrigt (bzw.abwesend) bei 40% EL; dieses Ergebnis wurde durch Transplantationen in *osk* bestätigt (Lehmann, in Vorbereitung).

Die Interpretation der *swa* Transplantationen ist beeinträchtigt durch die geringe Zahl injizierter Embryonen für den Wert bei 40% EL. Verglichen mit Wildtyp scheint die abdominale Aktivität bei 40%EL erhöht, und somit die Verteilung abdominaler Faktoren nach anterior ausgedehnt. Vielleicht ist die Verteilung vorne erhöht und hinten erniedrigt (siehe Legende Fig.315).

Die Experimente von Fig.314 können nicht direkt verglichen werden, da die dort transplantierten Zytoplasmamengen geringer waren.

Fig.316 Induktion von bicaudalen Embryonen in verschiedenen Genotypen
Tpl: WT (0%EL,UF) ⟶ WT.bcd^{+}.bcd.exu.swa (90%EL,S2)
mit bcd^{+1} = Df9A99/+, bcd = bcd^{E1}/bcd^{E2},
exu = PJ/QR, swa = 14/15.





bcd^{+} Aktivität in der Ei-Mitte führt zur Entstehung von langsegmentigen bicaudalen Embryonen. In bcd^{S} erzeugte bicaudale sind phänotypisch intermediär zwischen solchen in WT und exu (im Schema links vernachlässigt). Möglicherweise liegt das daran, daß die bicaudalen in WT eine Auswahl von Fällen mit besonders viel injizierter abdominaler Aktivität darstellen (D/R≈1 ist nur Durchschnittswert).

4. Rezipienten unterschiedlichen Genotyps

Posteriores Polplasma, transplantiert an das Vorderende von *WT* Embryonen, führt in der Gastrulation zu einer Verschiebung der Kopffalte nach anterior und zu Kopfdefekten in den differenzierten Embryonen (Lehmann 85, Frohnhöfer et al.86). Das Polplasma scheint die anteriore Aktivität zu inhibieren und zu ähnlichen morphologischen Veränderungen zu führen wie der Verlust anterioren Zytoplasmas. Wie die Induktion invertierter abdominaler Strukturen ist dieser Effekt *osk*$^{+}$ abhängig (Lehmann und Nüßlein-Volhard 86). Läuft bei der Transplantation zugleich anteriores Zytoplasma aus, oder werden 2 Polplasmen pro Rezipient injiziert, so werden die anterioren Strukturen stärker reduziert und es können auch bicaudale Phänotypen induziert werden.

Bei Transplantation in *exu*, *swa* und *bcd*^{Df9A99}*/+* entsteht ein ähnliches phänotypisches Spektrum. In allen untersuchten Mutanten gelang es aber leichter (häufiger), bicaudale Embryonen zu erzeugen, als in *WT*:

bcd^{S}*/bcd*^{S} >> *bcd*$^{-}$*/+* ≈ *exu* > *swa* >> *WT* (Fig.311,links;
vgl. *bcd*^{S}:100% bicaudale)

(Die Daten in Fig.311 enthalten keine Fälle mit 2 transplantierten Polplasmen pro Rezipient. Die Rezipienten waren alle getrocknet und verloren bei der Injektion meist trotzdem etwas anteriores Zytoplasma.)

Der Rezipienten Genotyp beeinflußt neben der Frequenz auch die Ausprägung des Bicaudal-Phänotyps (Fig.316). In *exu* induzierte bicaudale Embryonen besitzen meist eine besonders große Anzahl von Segmenten. Bei Induktion in *swa* dagegen zeigt zwar das primäre Abdomen eine hohe mittlere Segmentzahl, das invertierte Abdomen aber bleibt meist klein, so daß dann stark asymmetrische Embryonen entstehen. Innerhalb der asymmetrischen Fälle wird eine Gemeinsamkeit der Reaktion von *exu* und *swa* deutlich; bei beiden kann die Ebene der Polaritätsumkehr im Thorax liegen (Fig.313b).

Interpretation: Die erleichterte Induktion von Doppelabdomen läßt sich leicht auf die verringerte anteriore *bcd*$^{+}$-Aktivität in den 4 mutanten Genotypen zurückführen. Nicht-terminale *bcd*-Aktivität in *exu* ermöglicht (erleichtert) die Ausbildung anteriorer Abdominalsegmente und erhöht dadurch die abdominale Segmentzahl. Größere Inhomogenität der *bcd* Verteilung in *swa* könnte die Unterschiede zwischen *exu* und *swa* erklären.

Fig.317 Injektion in *bcd-osk*

A: *Tpl: WT (0%EL,UF) ⟶ bcd-osk (10%.50%.90%EL,S2)*
B: *Tpl: WT (ant.,UF) ⟶ bcd-osk*
C: *Tpl:Dpbcd⁺ (ant.,UF) ⟶ bcd-osk (15%.50%.85%EL,S2)*
mit *bcd-osk = E2 166/E2 166*

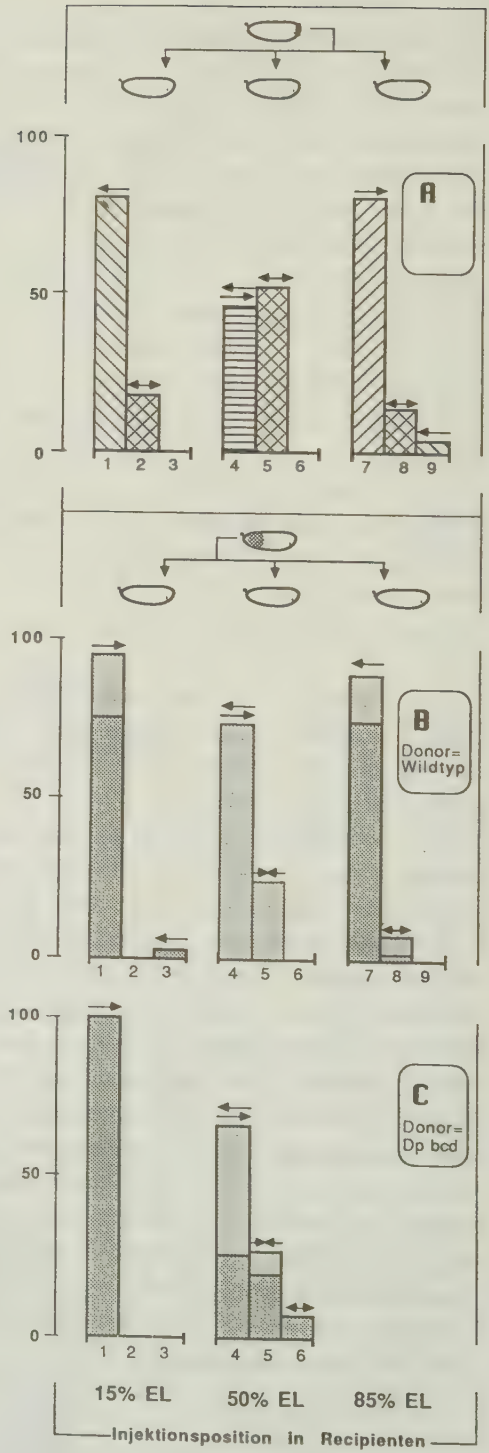
Die Diagramme geben die Häufigkeit (%) der Induktion abdominaler (A) oder anteriorer Strukturen (B,C), wobei phänotypische Klassen mit unterschiedlicher Organisation der Polarität unterschieden werden:
Die Pfeile auf den Säulen weisen immer in Richtung auf das induzierte morphologische Maximum und laufen daher in A entgegen der konventionellen Polarität.

A) Posteriores Polplasma induziert *bcd*-artige Phänotypen in normaler und inverser Orientierung oder bicaudale Embryonen.

- Abdomen normale Polaritaet
- Abdomen, invertierte Lage im Ei
- Abdomen, Lage im Ei ist nicht bekannt
- Bicaudale Embryonen

B,C) Anteriores Zytoplasma induziert Kopf- und/oder Thoraxstrukturen.

- Thoraxstrukturen
- Thorax- und Kopfstrukturen



III *BCD-OSK* UND ANDERE GENOTYPEN ALS REZIPIENTEN

1. *bcd-osk* (I) (Fig.317,319A)

In der Doppelmutante *bcd-osk* fehlen abdominale und anteriore Zytoplasmaaktivitäten. Injektion von posteriorem Polplasma induziert die Bildung von Abdominalsegmenten (Fig.317A); bei terminaler Injektion bestimmt die Injektionsstelle meist die Polarität der induzierten Strukturen. Es entstehen dann bicoidartige Phänotypen (Fig.317A Spalte 1), welche bei Transplantationen an den anterioren Pol eine invertierte Lage im Ei einnehmen (317A-7). In der Mehrzahl der Fälle wurden 5 bis 7 abdominale Segmente induziert. Daneben traten auch Bicaudal-Typen auf. Der Anteil der bicaudalen Embryonen war bei Injektion in die Eimitte deutlich erhöht (A-5). Die bicaudalen Embryonen sind gelegentlich asymmetrisch, meist aber symmetrisch und dann kurzsegmentig. Trotz Injektion in die Eimitte treten in der Kutikula nie interne abdominale Maxima auf.

Injektion anterioren Zytoplasmas induziert anteriore Strukturen (Fig.317B,C); wieder und noch deutlicher als bei abdominaler Induktion bestimmt die Induktionsstelle die Polarität, so daß *osk*-ähnliche Phänotypen mit normaler und invertierter Lage im Ei entstehen. Wie bei Injektion in *bcd* Empfängern lassen sich interne Maxima durch Injektion in die Eimitte erzeugen. Auch bei terminaler Injektion tritt in wenigen Fällen (B-8, Morphologie in C6 nicht eindeutig) ein zweiter symmetrischer Bautyp auf, bei dem hohe anteriore Positionswerte terminal exprimiert werden (Tendenz dicephal). Der Vergleich von Fig.317B-1 mit Fig.301b zeigt, daß anteriore Strukturen in *bcd-osk* leichter erzeugt werden können als in *bcd*; allerdings sind die beiden Genotypen nie in einer experimentellen Serie zusammen getestet worden.

Folgerungen:

- Die in *bcd* Rezipienten gefundene Hemmung der *bcd*'-Aktivität ist *osk*'-abhängig und geht daher vermutlich vom Polplasma aus.
- Für die Entwicklung anteriorer Strukturen werden keine posterior lokalisierten Faktoren benötigt. Deshalb können anteriore Strukturen von beiden Polen aus gleich gut induziert werden.

2. *bcd-osk* (II) (unvollständige Experimente)(Fig.318)

Mit dem Ziel, sensitivere Rezipienten als *bcd* Embryonen als Testsystem ausfindig zu machen, wurden schwach aktive Zytoplasma-

Fig. 318 Injektionen in *osk-bcd* (II), Verteilung abdominaler Aktivität in *exu*

Tpl: WT.exu (25%.50%.85%EL, UF) ⟶ osk bcd (ant., S2.S4,5)
mit exu = PJ/QR, bcd osk = E2 166; E2 166

Genotyp (Alter)	Entnahmeposition im Donor-Embryo														
	25% EL									50% EL			85% EL		
	v.v.			v.d.S.			v.h.			alle drei Richtungen			v.v.		
	A	T	n	A	T	n	A	T	n	A	T	n	A	T	n
WT ⟶ bcd osk (stadium 2)	72%	0%	11	33%	0%	10	33%	17%	12	20%	6%	35	0	100%	10
exu ⟶ bcd osk (stadium 2)	18%	0%	11							20%	0%	5	7,7%	7,7%	13
exu ⟶ bcd osk (stadium 4,5)	29%	71%	7							11%	53%	19			

Eintritt der Nadel in den Rezipienten:
v.v. von vorn
v.d.S. von der Seite
v.h. von hinten

A Embryonen mit Abdomen
T Embryonen mit Thorax (Identifikation problematisch!)
n Anzahl

fraktionen in *bcd-osk* injiziert. Donoren waren Wildtyp und *exu*, transplantiert wurde aus den Spender-Positionen 25%/50%/85% EL. Das Erkennen von Induktion anteriorer Strukturen war vollkommen unzufriedenstellend (außer bei *WT*-85% EL): Es formten sich nur unstrukturierte, schlecht differenzierte Zähnchenfelder, die im Einzelfall nicht zuverlässig von ähnlichen Feldern der Kontrollembryonen zu unterscheiden waren. In den injizierten Embryonen waren diese Felder etwas dichter mit Zähnchen besetzt, und die einzelnen Zähnchen waren besser sklerotisiert. Induzierte abdominale Felder waren ebenfalls meist unstrukturiert, aber anhand der besser ausgeformten Dentikel eindeutig identifizierbar.
Um Zytoplasma von einer bestimmten Position abzusaugen, wählte ich verschiedene Eintrittsstellen für die Nadel, was deutlich mitbestimmte, welche Zytoplasmafraktion ich absaugte. Die Ergebnisse sind vereinbar mit der Vorstellung, daß im hinteren Drittel von *exu* Embryonen weniger abdominale Aktivität vorhanden ist als in *WT*, anterior jedoch die abdominale Aktivität erhöht ist wie in *swa*. Der mutante Phänotyp von *exu* beruht vermutlich auf einer Gleichverteilung der *bcd*$^+$-Aktivität in den Embryonen (siehe E-4,E-5). Dies könnte sekundär zu einer Abflachung der Verteilung abdominaler Faktoren führen. Die Verringerung abdominaler Aktivität am posterioren Pol kann jedoch auch nur vorgetäuscht sein, wenn, bei Entnahme von posteriorem Zytoplasma, gleichzeitig anteriore und abdominale Faktoren transplantiert wurden.
Es gibt einen deutlichen Anstieg in der Frequenz induzierter thorakaler Strukturen mit dem Alter der *bcd-osk* Empfänger. Es stellt sich die Frage, ob die Differenzierung nicht-segmentierter Zähnchenfelder durch unspezifische Eingriffe ausgelöst werden kann, und es wäre nötig, diese altersabhängige Wirkung mit aktiverem anteriorem Wildtypzytoplasma zu überprüfen.

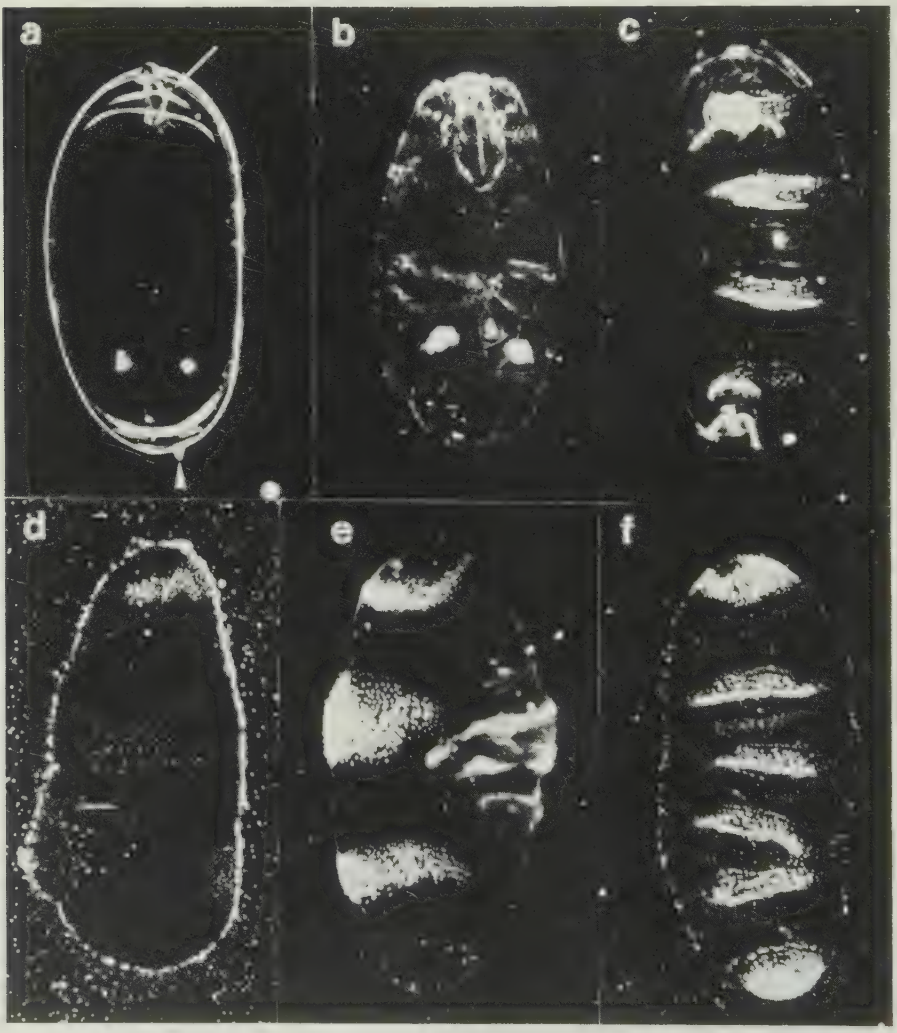
Zwei Embryonen, die mit *WT*-Zytoplasma von 25% EL injiziert waren, zeigten abdominale Segmentierung. Beide haben hohe abdominale Positionswerte in der Embryomitte:

tel-$\bar{A}\bar{1}$-$\bar{A}$-$\bar{A}$-$\bar{A}\bar{1}$-tel, tel-$\bar{A}\bar{1}$-$\bar{A}\bar{1}$-tel.

Eine symmetrische Organisation dieses Typs (inneres abdominales Maximum) ist nie nach Injektion von posteriorem Polplasma aufgetreten. Entweder die abdominalen Faktoren in Polplasma und nichtterminalem Dotter unterscheiden sich qualitativ, oder die symmetrische Organisation wurde von anterioren Faktoren hergestellt.

Fig.319 A Injektion in *bcd-osk* Embryonen
a,b) Anteriores Zytoplasma wurde am Hinterende injiziert: Tel-3T-H4
c) Posteriores Polplasma wurde in die Mitte injiziert: Tel-2A-Af-2A-Tel
Pfeil: Kopfskelett Pfeilspitze: Mikropyle

Fig.319 B Injektion in *bcd-osk-tsl* Embryonen
d) Mit anteriorem Zytoplasma (am Vorderende) injiziert: T1-T-T
e) Mit Zytoplasma von 40% EL (am Hinterende) injiziert: A(1)-A-A(1)-kei
f) Mit posteriorem Polplasma (am Hinterende) injiziert: A(1)-5A
Die Identifizierung von A1 ist nicht eindeutig. Welche Lage Embryo (e) in der Eihülle einnahm ist, nicht bekannt.



3. Injektion in *osk-bcd-tsl* (Fig.319B)

Tpl: WT (0%.40%.85% EL,S2) --> bcd-osk-tsl (terminal,S2.S4)

(*bcd-osk-tsl = E2 166 035/E2 166 691*)

Da sich die Doppelmutante *bcd-osk* nicht als besonders geeignet erwies, um niedrig-aktive Zytoplasmafraktionen zu testen, habe ich begonnen die Dreifach-Mutante *bcd-osk-tsl* als Empfänger zu verwenden. Injektion von Polplasma an das vordere oder hintere Ende induziert die Differenzierung von Abdomen (mit 5A, 6A, 7A) in normaler und inverser Orientierung. In einem Fall wurde merkwürdigerweise auch Thorax gebildet:

T-kei-A1-A4 kei = Keilin's Organ

Die Induktion anteriorer Strukturen mit anteriorem Zytoplasma war weniger effektiv als in *bcd-osk*; es wurden nie Kopfstrukturen induziert, häufig aber 3 wohlausgeprägte Thoraxsegmente (n=8 von 14). In den übrigen Fällen formten sich Haar- und Zähnchenfelder, die nicht klar zu identifizieren waren; es fehlte dann nicht nur die anteroposteriore Polarität, sondern auch eine Dorsoventral-Ordnung war nicht offensichtlich. Manchmal wurden Filzkörper gebildet; wenn ein segmentierter Thorax vorhanden war, lagen die Filzkörper posterior davon.

T1-T-T-fk fk=Filzkörper

(Die Induktion *tsl*-abhängiger Strukturen wird in IV untersucht. Bei dem Versuch, *tsl* durch Injektionen zu normalisieren, gelang die Induktion von Filzkörpern aber nur mit posteriorem Donorzytoplasma.)

In älteren Rezipienten (Stadium 4) war die anteriore Induktion stark abgeschwächt.

Zytoplasma von 40%EL induzierte in allen Fällen (n=11) abdominale Strukturen, wobei die abdominalen Strukturen meist segmentiert waren (n=8). Ein Embryo zeigte ein nicht-terminales abdominales Maximum (Fig.319e), ähnlich wie es in *bcd-osk* anzutreffen war. Außer den abdominalen Strukturen differenzierten manche Embryonen auch (Filzkörper und) thorakale Strukturen:

z.B. Tf-(kei,bd)-A1-3A bd=black dots

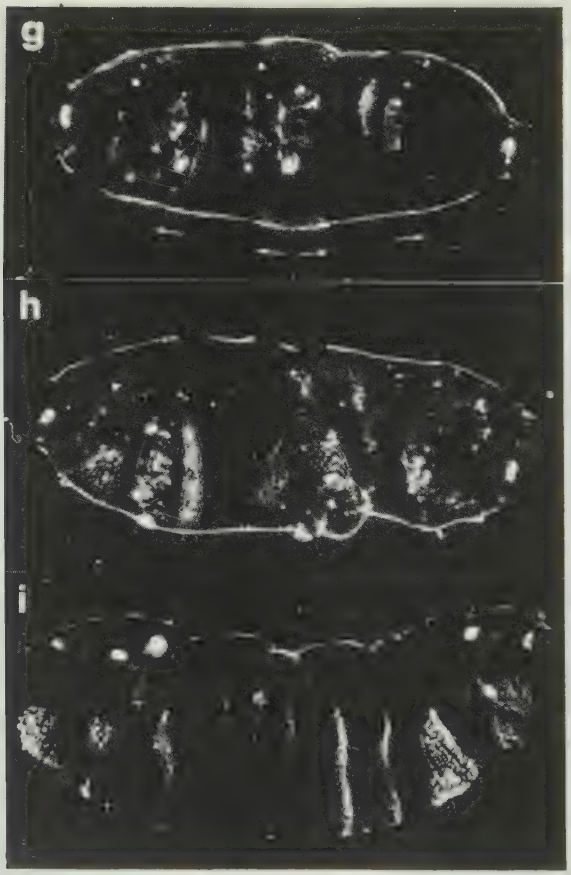
In allen Experimenten wurde Standardvolumen transplantiert, also weniger Material als etwa in den Experimenten in D-II-2 mit *bcd* Empfängern. Die Tripelmutante hat sich damit als besonders sensitiv für die Induktion abdominaler Strukturen erwiesen und bietet sich als Empfängergenotyp zur Untersuchung der Verteilung abdomenspezifischer Faktoren an. Die Induktion anteriorer Strukturen ist dagegen schwächer als in *osk-bcd* Embryonen. Daß keine

Fig.319 C Induktion anteriorer Strukturen nach Injektion in *Bic-D^{IIIE48}/Bic-D^{7134}* bei 50% EL

g) tel-$\overline{T}$2-$\overline{T}$1-h2-$\overline{T}$1-$\overline{T}$2-tel

h) tel-$\overline{T}$-$\overline{T}$1-h2-$\overline{T}$1-$\overline{T}$-T-$\overline{A}$-tel

i) tel-$\overline{A}$-$\overline{A}$-$\overline{A}$1-$\overline{T}$-kei-kei-($\overline{T}$,kei)-$\overline{A}$1-$\overline{4A}$-tel, kei=Keilin's Organ



Kopfstrukturen induziert wurden, erinnert an den Verstärkungseffekt von *tsl* auf bcd^{W} in Doppelmutanten.

4. Injektionen in *Bicaudal-D* (Fig.319C)

Tpl: Dp bcd^{+} *(ant., UF) --> Bic-D (15%.32%.50%.72% EL,S2)*

Bic-D = IIIE48/7134

Entsprechend der Variabilität des *Bic*-Phänotyps sind auch die Ergebnisse von Transplantationen in *Bicaudal* sehr verschiedengestaltig. Einige charakteristische Phänotypen, die nach Transplantation von anteriorem Zytoplasma auftreten, sollen beschrieben werden:

- Durch Injektion bei 50% EL können nicht-terminale anteriore Maxima induziert werden. Die Embryonen zeigen bestimmte Unterschiede zu entsprechenden Phänotypen, die in *bcd* und *bcd-osk* Rezipienten erhalten werden können:

  ant.Zytopl. --> *bcd* tel- $\widetilde{T}$-$\widetilde{T1}$-h-$\widetilde{T1}$-$\widetilde{T}$-$\widetilde{T}$-(A)-tel

  ant.Zytopl. --> *bcd osk* tel- $\widetilde{T}$-$\widetilde{T1}$-h-$\widetilde{T1}$-$\widetilde{T}$ -tel

  ant.Zytopl. --> *BicD* tel-$\widetilde{T2}$-$\widetilde{T1}$-h-$\widetilde{T1}$-$\widetilde{T2}$-tel

  In Embryohälften, in denen sich abdominale Aktivität am Pol befindet (*Bic, bcd* posterior), richtet sich der Thorax in monotoner Polarität aus, wohingegen in Hälften mit unbesetzten Polen (*bcd-osk, bcd* anterior) die Polarität der terminal liegenden vDB`s nicht eindeutig ist oder sich gar umkehrt. Die Phänotypen könnten damit erklärt werden, daß sich neben dem median induzierten anterioren Maximum weitere relative Maxima an den Polen etablieren, falls keine abdominale Aktivität dort residiert. Die Anwesenheit abdominaler Aktivität scheint die Ausbildung eines vDB^{T3} bei Mangel an Raum zu begünstigen, sie wird dafür jedoch nicht unbedingt benötigt wie der Phänotyp von *osk* zeigt.

- Mit schwächerer anteriorer Induktion bei 50% EL können sich auf beiden Seiten abdominale Regionen entwickeln:

  ant.Zytopl. --> *Bic-D* => tel-(x$\vec{A}$)-$\vec{T}$-$\vec{T}$-(y$\vec{A}$)-tel oder

  tel - 7$\vec{A}$ - 7$\vec{A}$ - tel; x,y=Variable

  Die Bildung von vielsegmentigen symmetrischen bicaudalen Embryonen bestätigt die Interpretation gleichartiger Phänotypen, die durch Transplantation von Polplasma an das Vorderende von *exu* Embryonen erzeugt werden können.

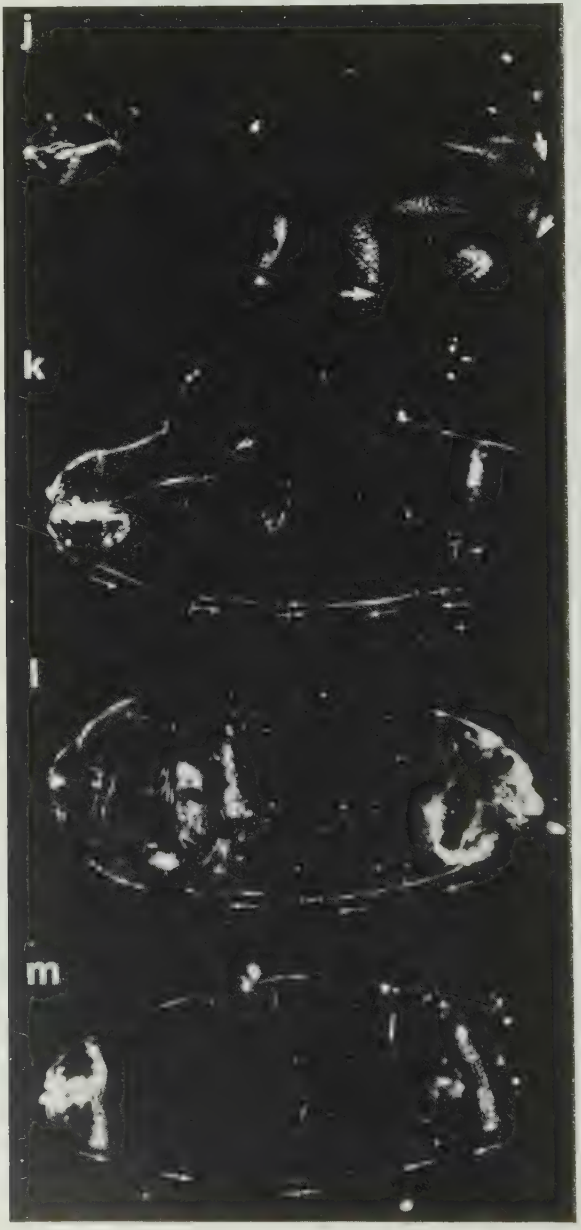
- Transplantation nach 15% EL kann zu Embryonen (anteriore Strukturen unvollständig) mit invertierter Lage im Ei führen.

Fig.319 D Polaritätsinversion in verschiedenen Genotypen durch Induktion mit anteriorem Zytoplasma

	Rezipient:	Phänotyp:
j)	*Wildtyp*	H6-3T-A-A-Af-A-A-tel
k)	*oskar*	H6-T1-T2-T3-T2-T1-h1/2
l)	*bicoid*	tel - - T3-T2-T1-h2
m)	*osk-bcd*	H4-T1-T2-T3-T2-T1-h2
n)	*Wildtyp*	h4 - T1 - T1 - h2

(übernächste Seite)

(j),(k),(l) und (n) wurden posterior injiziert; in (m) wurde das anteriore Zytoplasma auf drei Punkte in der anterioren Eihälfte verteilt (≈Fig.308).



5. Injektionen in *WT* und *osk* (anteriores Zytoplasma)(Fig.319D)
Transplantation von anteriorem Zytoplasma an das Hinterende von Wildtyp oder *osk* Embryonen führt am Hinterende zu phänotypischen Effekten, wie sie bereits nach entsprechenden Transplantationen in *bcd* und *bcd-osk* gefunden wurden. Das Abdomen, falls vorhanden, wird reduziert oder invertierte abdominale Segmente kommen zum Vorschein. Dahinter können Thoraxsegmente oder im Extremfall Kopfstrukturen induziert werden, so daß dicephale Embryonen ausgebildet werden. Duplizierte anteriore Strukturen können in *osk* etwas leichter induziert werden als in Wildtyp:

Tpl: Dp bcd^{+} (ant;UF) ---> osk.WT (15%EL;S2)

Rezipient	h-x$\vec{T}$-(yA)-x$\overline{T}$-h	h-x$\vec{T}$-(yA)-z$\overline{T}$-tel	Sonstige	Anzahl
osk^{166}	28%	67%	5%	18
WT	5%	32%	47%	19

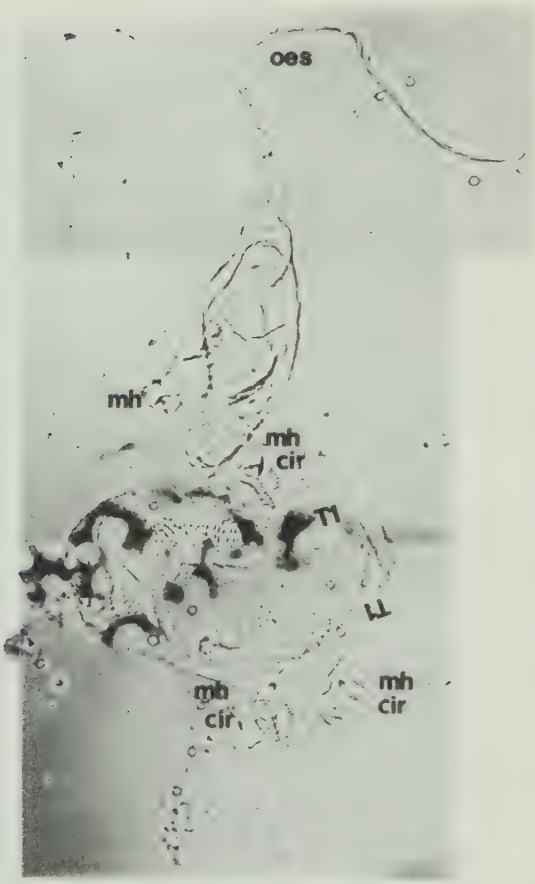
x,y,z Variable, falls y≠0, dann x=3

Soweit untersucht, gelingt die Induktion anteriorer Strukturen am Hinterpol am leichtesten in *bcd-osk*, am schwersten in Wildtyp:

bcd-osk > bcd > osk > osk^{+} bcd^{+}

Vorne liegende *bcd^{+}*-Aktivität scheint die Wirkung von *bcd^{+}* am Hinterpol stärker zu inhibieren als posteriores Polplasma; möglicherweise übt sie jedoch keine eigentliche inhibitorische Wirkung aus, sondern reduziert lediglich das Polaritätsgefälle. Eine solche Interpretation wird durch die Phänotypen nahegelegt. Wenn an beiden Enden Kopfstrukturen gebildet werden, ist auch die anteriore Entwicklung am originalen Vorderende stark beeinträchtigt. Die Kopfregion ist recht klein und birgt nur wenige identifizierbare Elemente (meist Mundhaken, Maxillares Sinnesorgan); der Thorax ist stark reduziert, so daß oft nur noch Prothorax erkennbar bleibt (Fig.319n)(ähnlich wie *exu-osk*). Im Extremfall fehlt die gesamte Thoraxregion, und zwei isolierte Knäuel von Kopfstrukturen machen das gesamte kutikularisierte Inventar des Embryos aus. In solchen Embryonen verschwinden also Strukturen, die niedrigen anterioren Positionswerten zugeordnet sind, während stärker anteriore Strukturen erhalten bleiben.

Fig.319 D, n



Es ist möglich, den posterioren Telsondefekt in *torsolike* durch Transplantation von posteriorem Zytoplasma (*WT*) an eine posteriore Stelle in den mutanten Eiern zu kurieren. In Vorversuchen ließen sich nur mit älteren Donoren (etwa Stadien 4d-5b) deutliche Effekte erzielen. Systematisch getestet wurde nur die Altersabhängigkeit in den Rezipienten (Fig.320A). Die Maximale Reaktion wird mit älteren Embryonen erreicht:

Tpl: WT(posterior;S5a,b)-->tsl^{035}/tsl^{146}(posterior;S4)

Nach Möglichkeit versuchte ich in den Donoren das posteriore Zytoplasma ohne das Polplasma aufzusaugen. Die transplantierten Zytoplasmamengen waren größer als die Standardmenge der *bcd* Transplantationen. Bisweilen wurde die Bildung eines kompletten Telson erreicht. Bei schwächerer Reaktion bildeten sich nur Filzkörper, während weiter posterior liegende Strukturen (Tuft) noch fehlen konnten. Auch die Anzahl der vDB^{A}s konnte von 7 auf 8 angehoben werden, doch war dieser Effekt nicht strikt mit dem Erscheinen telsonaler Strukturen gekoppelt.

Zur Klärung der Positionsabhängigkeit wurden drei Injektionspositionen und drei Zytoplasmafraktionen unterschieden: anterior (a), Mitte (m) und posterior (p).

Tpl: WT (a.m.p,S5a,b) --> tsl (a.p,S4)

Position	Anzahl	fk	fk&Tft
p --> p	57	58%	35%
p --> a	5	0%	0%
m --> p	26	5%	0%
a --> p	28	4%	0%
a --> a	10	10%	0%

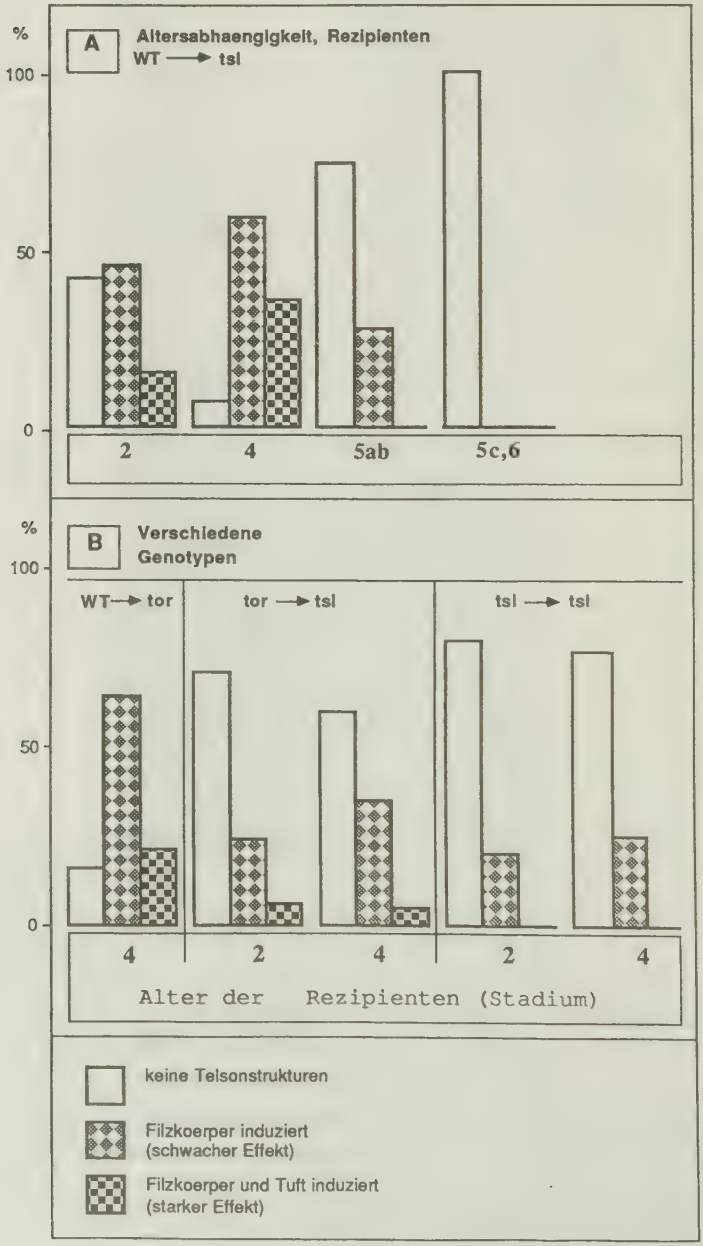
Nur von posteriorem Zytoplasma, injiziert nach posterior, geht eine klare Induktionswirkung aus. Die Transplantation p-->p führt in Rezipienten des Genotyps *tor* zu quantitativ ähnlichen Ergebnissen (Fig.320B). Bei *tor* habe ich nur in Einzelfällen die Parameter Ort und Zeit variiert; bei der Transplantation a-->a trat dabei etwas neues auf: Bei einigen Embryonen bildete sich ein Labralskerit, bei einem Embryo eine Dorsale Brücke. Möglicherweise wurde auch in *tsl* bisweilen ein Labralskerit induziert,

Fig.320 Injektion in *tsl* und *tor*: Häufigkeit von schwacher und starker Induktion von Telsonstrukturen bei Transplantationen p-->p

A: *Tpl: WT (0-20%EL,S5ab) ---> tsl (10%EL,S2.S4.S5ab.S5c,6)*

B: *Tpl: WT (0-20%EL,S5ab) ---> tor (10%EL, S4)*
Tpl: tor (0-20%EL,S5ab) ---> tsl (10%EL,S2.S4)
Tpl: tsl (0-20%EL,S5ab) ---> tsl (10%EL,S2.S4)
mit *tsl = 035/146* *tor = WK/PM*

Für jedes Experiment wurden durchschnittlich 25 Embryonen ausgewertet.



ohne daß es eindeutig zu identifizieren war.

Zytoplasma aus *tor* ist wirksam in *tsl*, scheint aber in seiner Aktivität etwas reduziert zu sein. Überaschenderweise induziert auch Zytoplasma aus *tsl* in *tsl* Filzkörper in einer signifikanten Häufigkeit (Fig.320B). Allerdings ist zu bedenken, daß wenigstens eines der beiden verwendeten Allele (*035*) nicht vollkommen amorph ist.

Fig.401 Lokalisierte Zytoplasmaaktivitäten in den untersuchten Mutanten

	Anteriore Aktivität	Verteilung der ant. Aktivität	Polplasma Aktivität	Verteilung der abdominalen Aktivität
WT	+++		+++	
bcd	-		+++	ausgedehnt
exu	+	flach	+++	(flach ?)[1]
swa	++	flach	+++	(flach ?)[1]
osk	+++		-	
pum	+++[2]		+++	steil
stau	++(+)	(fach ?)	-	
tsl	+++	?	+++[3]	?

[1]) Messung der abdominalen Aktivität beeinträchtigt durch anteriore Faktoren
[2]) beurteilt nach Phänotyp
[3]) Lehmann 85
Anteriore und abdominale, polplasmaabhängige Aktivität wurden durch Transplantation in *bcd* Rezipienten getestet. Die polplasmaabhängige Aktivität wurde für die aufgeführten Mutanten auch durch Injektion in Embryonen der *oskar*-Gruppe nachgewiesen (Lehmann 85 & pers.Mittlg.). Beide biologische Testverfahren, Induktion eines sekundären Abdomens in *bcd* und Restitution eines Originalabdomens (z.B.) in *oskar*, scheinen somit identische Faktoren nachzuweisen.

Die Mehrzahl aller zygotisch letalen Gene wird auch in der Oogenese gebraucht und transkribiert (Perrimon et al.84). Dagegen werden nur etwa 75 Gene ausschließlich während der Oogenese exprimiert (extrapoliert von 15 maternalen Genen am I. Chromosom, Perrimon et al.86). 14 maternale Gene sind beschrieben, deren Funktionsausfall zu Störungen in der Anlage des anteroposterioren Musters im Embryo führt. Abgesehen von *staufen* lassen sich die Mutanten dieser Gene einer von drei Klassen zuordnen: Entweder sind das Abdomen, die terminalen Regionen oder - vorwiegend - die anteriore Region des Embryos betroffen. In der dreifach-Mutante *bcd-osk-tsl* sind alle wohlstrukturierten morphologischen Elemente der Kutikula verschwunden, so daß die gesamte anteroposteriore Polarität eliminiert ist. Die Doppelmutante *bcd-tsl* besitzt noch die *osk*-abhängigen Funktionen, und die Embryonen vermögen eine abdominale Region auszubilden. Entsprechend bleiben in *osk-bcd* die *tsl*-abhängigen terminalen Strukturen erhalten, und in *osk-tsl* die *bcd*-abhängigen anterioren Strukturen. So scheinen 3 verschiedene Systeme von maternalen Genen zusammenzuwirken, um das vollständige anteroposteriore Muster des Embryos aufzubauen. Jedes der Gensysteme kann relativ unabhängig von den anderen für die Entwicklung seines ihm zugeordneten Anlagenbereichs sorgen (primäre Funktion). Vollkommen unabhängig voneinander erscheint die Lokalisation der *bcd*- und *osk*-abhängigen terminalen Zentren zu erfolgen (Fig.401). Doch kann der Ausfall einer Komponente zu Anlagenplanverschiebungen in den übrigen Teilen führen; *bcd* abhängige Funktionen entscheiden, ob sich terminale Regionen als Telson oder als Labrum entwickeln. Wechselwirkungen zwischen den drei Komponenten müssen daher zusätzlich angenommen werden (sekundäre Funktionen).

1. *bcd* - anteriore Aktivität

In *bcd* Embryonen fehlen Kopf und Thorax - Strukturen, die normalerweise der anterioren Hälfte des Eies (Blastoderms) entstammen. Stattdessen sind die abdominalen Anlagen nach vorne ausgedehnt, am Vorderende wird ein Telson dupliziert, und ein großer Teil der Zellen in der vorderen Region wird durch Zelltod eliminiert. In hypomorphen Allelen tritt eine verkleinerte anteriore Kopf/Thorax -Region auf; in den meisten Allelen gilt, daß anteriore cephale Strukturen stärker reduziert sind als die thorakale Region.

Einerseits können durch Entfernen anterioren Zytoplasmas *bcd*-Phänokopien in *WT*-Embryonen hergestellt werden, andererseits vermag transplantiertes anteriores *WT*-Zytoplasma *bcd* Embryonen zu normalisieren; im Extremfall können dabei alle anterioren Strukturen neu induziert werden. Die Konzentration der Aktivität hängt etwa linear von der *bcd*$^+$ Kopienzahl ab, so daß wahrscheinlich das Genprodukt von *bcd* die aktive transplantierbare Komponente darstellt. Die *bcd*$^+$-Aktivität ist vorwiegend innerhalb der vorderen 20% des Eies lokalisiert; sie befindet sich dort bereits in unbefruchteten Eiern und verschwindet relativ abrupt nach Abschluß der Furchungsteilungen. Heterotope Transplantationen zeigen, daß die Lokalisation der *bcd*$^+$-Aktivität Position und Polarität der anterioren Strukturen bestimmt. Zusätzlich beeinflußt ein unbekannter Mechanismus die Entwicklung derart, daß sich anteriore Maxima bevorzugt in terminalen Regionen des Embryos ausbilden.

Das posteriore Polplasma kann auf die Entwicklung anteriorer Strukturen hemmend wirken. Durchgreifender jedoch sind die hemmenden Einflüsse von *bcd* auf die Abdomen-Entwicklung (sekundäre Funktion). Abhängig von der Position ruft die *bcd*$^+$-Aktivität im Abdomen ganz verschiedengestaltige Effekte hervor. Bei anteriorer Lage drängt sie die abdominalen Segmente an das posteriore Ende zusammen. Transplantiert an das Hinterende anteriorisiert sie die posterior gelegenen Abdominalsegmente und invertiert deren Polarität. Wenn die transplantierte Menge groß genug ist, kann die Entwicklung abdominaler Segmente auch vollkommen unterdrückt werden. Die positionsspezifische Wirkung der *bcd*$^+$-Aktivität in diesen Versuchen belegt, daß unmittelbar Faktoren in der prospektiven Abdominalregion und nicht das Polplasma beeinflußt werden. In normalen Embryonen begrenzt *bcd* die Ausdehnung der Abdominalregion auf die hintere Hälfte des Eies; durch Festlegung der Grenze Thorax/Abdomen scheint es die Segmentierung im Abdomen zu stabilisieren.

2. *bcd* - molekulare Ergebnisse

bcd ist kloniert (Frigerio et al.86). In-situ-Hybridisierung ergab, daß sich die RNA von *bcd* während der Oogenese in den Nährzellen und am anterioren Pol der Oozyte ansammelt, also vermutlich in den Nährzellen transkribiert und dann direkt an den zukünftigen anterioren Pol des Eies ausgeschleust wird. In den Embryonen ist die RNA innerhalb der vorderen 20% des Eies kon-

zentriert. Zuerst liegt sie zentral im Dotter, später - im synzytialen Blastoderm - weiter außen in der peripheren Zytoplasmaschicht. Die Transkripte verschwinden mit dem Ende der Furchungsteilungen (Frigerio et al.86, Berleth pers.Mittlg.).
Mit Hilfe klonierten Proben konnten Antikörper gegen *bcd* erzeugt werden. Die Antikörpermarkierungen in jungen Embryonen (Stadium 1,2,3,4) zeigen eine gradientenförmige Verteilung des *bcd* Proteins. Die Markierung reicht mindestens bis zur Mitte des Eies nach hinten und färbt (Stadium 4) die Zellkerne besonders intensiv. Nach Ende der Furchung wird die Markierung fortlaufend schwächer und ist zu Gastrulationbeginn manchmal gerade noch anterodorsal (labrale Region) in einigen Kernen zu erkennen (Driever pers. Mittlg.).
Insbesondere die *bcd* RNA stimmt in ihrer räumlichen und zeitlichen Verteilung gut mit der transplantierbaren anterioren Zytoplasmaaktivität überein. Vermutlich setzt sich die Zytoplasmaaktivität aus beiden Komponenten, RNA und Protein, zusammen, wobei RNA die aktivere Fraktion ausmacht.
Die RNA scheint als lokalisierte Quelle zu fungieren, während das diffundierende Protein wahrscheinlich das effektive Signal darstellt, das die Zellkerne dazu instruiert, eine anteriore Differenzierungsrichtung einzuschlagen. Die Akkumulation des Proteins in den Zellkernen, und die Tatsache, daß das *bcd* Transkript eine Homöobox-Sequenz enthält (Frigerio et al.86), sprechen dafür, daß das *bcd* Protein unmittelbar selbst genregulatorisch in den Zellkernen tätig wird.

3. *osk* - abdominale Aktivität

osk (Lehmann 85), sowie 3 weitere maternale Gene, *tudor, vasa* und *valois* (Schüpbach und Wieschaus 86, Boswell und Mahowald 85), eliminieren das Polplasma und die Fähigkeit, Abdomen zu bilden. In Mutanten des Gens *nanos* ist ebenfalls das Abdomen eliminiert; das Polplasma bleibt jedoch erhalten, und auch die Bildung der Polzellen verläuft normal (Lehmann, pers.Mittlg.). Damit ist *nanos* (eher als *oskar*) als dasjenige Gen anzusehen, das für die Abdomenentwicklung eine vergleichbare Rolle spielt wie *bcd* für die anterioren Strukturen. Für *osk* liegt jedoch die größere Zahl experimenteller Beobachtungen vor.

Einige von diesen verweisen auf mögliche Grenzen der Analogisierbarkeit von posteriorem Polplasma und anteriorem *bcd*-abhängigem

Zytoplasma:

(1) In *oskar* dehnen sich trotz des Verschwindens der abdominalen Strukturen die anterioren Anlagen nur geringfügig nach hinten aus (Carroll et al.86, Lehmann pers.Mittlg.).

(2) In der phänotypischen Serie von *oskar* zeigt die Reihenfolge, in der abdominale Segmente eliminiert werden, keine polare Ordnung. Zuerst fallen Segmente der mittabdominalen Region aus, A1 und A8 sind am stabilsten.

Transplantation von Polplasma in die prospektive abdominale Region von *oskar* Embryonen restituiert die Bildung von Abdomen (Lehmann 85, Lehmann und Nüßlein-Volhard 86). Die Menge transplantierten Zytoplasmas und die gewählte Injektionsposition beeinflussen den Phänotyp ganz anders, als es bei den Transplantationen zur Normalisierung von *bcd* der Fall war:

(3) Bei unvollständiger Normalisierung von *osk* Embryonen beeinflußt die Injektionsposition, welche abdominalen Segmente gebildet werden: Soweit dies bei der begrenzten Unterscheidbarkeit abdominaler Segmente beurteilt werden kann, kommen vorzugsweise diejenigen abdominalen Segmente zur Differenzierung, die gemäß dem Wildtyp-Anlagenplan an der Injektionsstelle liegen.

(4) Strikt homotope Transplantation des Polplasmas ist nicht sehr effektiv. Um eine optimale Normalisierung des Abdomens zu erreichen, muß es in die prospektive abdominale Region injiziert werden.

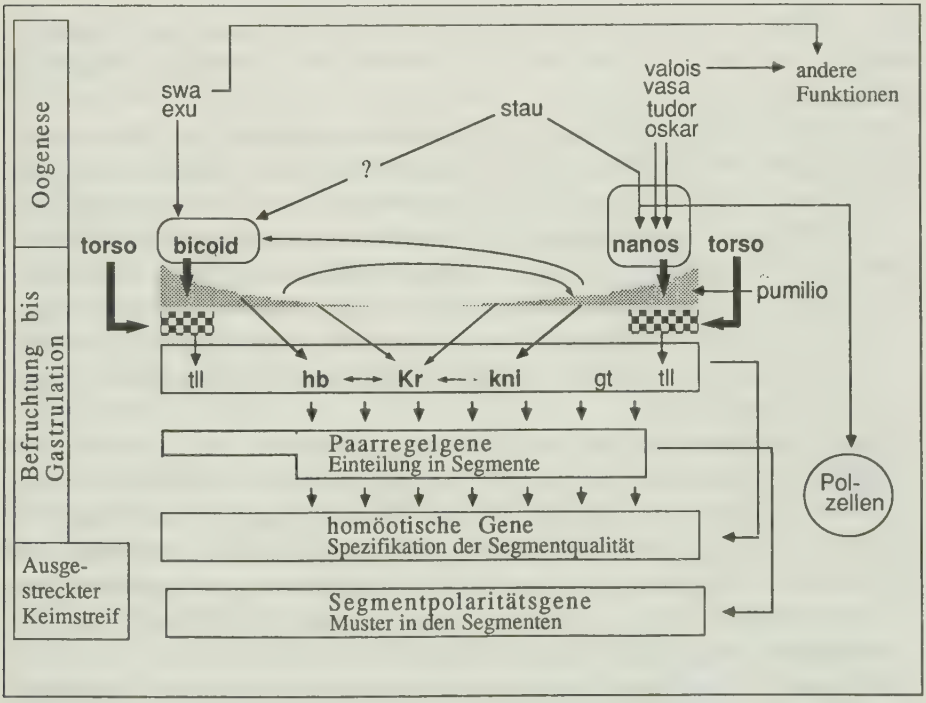
(5) Das transplantierte Volumen beeinflußt die Anzahl der gebildeten Abdominalsegmente, aber - primär - nicht deren Qualität.

Die Experimente ergeben keine deutliche Vorstellung, wie vom Polplasma aus die abdominale Region organisiert werden könnte. Das mag am Einfluß anteriorer Faktoren auf das Abdomen liegen, an der Verschaltung zygotischer Segmentierungsgene oder daran, daß nicht wirklich die Wildtypfunktion des Polplasmas im Experiment substituiert werden kann (Punkt 4). Jedenfalls fehlen klare Hinweise dafür, daß die Organisation innerhalb des Abdomens von absoluten Konzentrationswerten polplasmaabhängiger Faktoren abhängt. Bei Transplantation an den Vorderpol von *bcd-osk* Embryonen bestimmt das Polplasma jedoch die Polarität der gesamten abdominalen Anlage. Die Abdomeninduktion in *bcd-osk-tsl* macht es unwahrscheinlich, daß die abdominale Polarität vollkommen von den benachbarten Funktionen *bcd* und *tsl* abhängig ist. Denkbar ist,

Fig.402 Funktionelle Beziehungen zwischen verschiedenen Genen

Lokalisierte *bcd* RNA erzeugt einen *bcd* Proteingradienten zur Erzeugung anteriorer Strukturen. *nanos* könnte eine ähnliche Funktion am posterioren Pol haben. *osk, valois und vasa* werden zum Aufbau des Polplasmas benötigt, und schaffen dadurch die Vorrausetzung für die Lokalisation von *nanos*. Während sich bei *bcd* und *nanos* Faktoren von einem vorgeformten Zentrum ausbreiten, werden *torso* abhängige Faktoren vielleicht erst während der Embryogenese lokalisiert. Mögliche Interaktionen von *torso* mit *nanos* und *bcd* sind nicht berücksichtigt.
giant (gt) und *tll* gehören vielleicht derselben hierarchischen Ebene an wie *hb, Kr* und *kni*.
Paarregelgene zeigen ein regelmäßiges Streifenmuster nur im Bereich von ≈15-70% EL.

Kleine Pfeilspitzen: Supprimierende Wirkung



daß polplasmaabhängige Faktoren Gesamtgröße und Polarität der differenzierungsfähigen abdominalen Anlage bestimmen, aber wenig zu deren weiterer Unterteilung beitragen.
Während der suppressive Effekt von *bcd* auf das Abdomen im prospektiven Abdominalbereich wirksam wird (Fig.402), vermag das Polplasma die Entwicklung anteriorer Strukturen nur zu hemmen, wenn es sich in der Nähe der anterioren Quelle befindet (Lehmann 85, Fig.305). Vermutlich können die posterioren Faktoren nur die anteriore Quelle inhibieren; andernfalls wären wohl stärkere Anlagenplanverschiebungen der anterioren Strukturen in *oskar* zu erwarten. In *exu* läßt sich ein direkter Effekt polplasmaabhängiger Faktoren auf die *bcd* RNA aufzeigen (siehe unten). Dem Hemmeffekt des Polplasmas läßt sich in der Normalentwicklung jedoch bislang keine klare Funktion zuweisen.

4. *exu*

In *exu* hat die *bcd*-Aktivität ihre vornehmlich anteriore Lokalisation verloren. Diese Interpretation leitet sich von folgenden Evidenzen ab:

- Die transplantierbare *bcd*-abhängige Aktivität am anterioren Ende von *exu* Eiern ist stark reduziert. Eine Reduzierung der *bcd* Aktivität in *exu* durch Kombinationen mit schwachen *bcd* Allelen ruft eine drastische Verstärkung der anterioren Defekte hervor. Dagegen läßt sich durch Entfernen anterioren Zytoplasmas keine weitere Verstärkung des Phänotyps erreichen. Offenbar ist, anders als in Wildtyp oder bcd^{w} Embryonen, ein erheblicher Teil der *bcd*-Aktivität nicht im anterioren Zytoplasma enthalten.
- Eine Gleichverteilung der *bcd*-Aktivität kann alle phänotypischen Eigenschaften von *exu* erklären: Die verringerte Konzentration an der anterioren Spitze ist ungenügend, um anteriore Kopfstrukturen zu induzieren. Ein ausgedehnter Bereich mit mittleren Werten legt vergrößerte Regionen für Thorax und Gnathocephalon fest. Die nach hinten ausgedehnte *bcd*-Aktivität verschiebt die abdominalen Segmente nach hinten.
- In den Doppelmutanten *exu-vasa* und *exu-osk* treten anteriore Strukturen an beiden Enden des Embryos auf; die Embryonen sind weitgehend symmetrisch. Daraus ist zu schließen, daß die verbleibende Polarität in *exu* Einfach-Mutanten weitgehend einem polarisierenden Einfluß des Polplasmas zuzuschreiben ist, während in der Verteilung der *bcd*-Aktivität kaum noch Informa-

tion über das originäre Vorderende gespeichert ist.

5. Unterschiede zwischen *exu* und *swa*

In den meisten Untersuchungen verhält sich *swa* qualitativ wie *exu*, und so kann auf eine gleichartige Störung in der Verteilung der *bcd*$^+$ Aktivität geschlossen werden. *swa* zeigt aber, anders als *exu*, auch Defekte, die vor der Gastrulation sichtbar werden und keinen direkten Zusammenhang mit musterbildenden Funktionen erkennen lassen: Die Zellularisierung ist häufig gestört, und die Anzahl der Polzellen kann verringert sein. Da das Polplasma eine im wesentlichen normale Kapazität zur Induktion abdominaler Regionen besitzt, ist die Störung der Polzellbildung vermutlich einer Entwicklungsverzögerung im Furchungsverlauf anzulasten (Okada 86, Mayer 86). Auch bei den musterbildenden Funktionen lassen sich Unterschiede zwischen *exu* und *swa* ausmachen:

- *swa* hat stärkere Abdominaldefekte, aber schwächere Kopfdefekte als *exu*.
- *swa-osk* Doppelmutanten produzieren keine Embryonen symmetrisch-dicephalen Typs, d.h. die Elimination der Polplasma-abhängigen Polarität ist nicht aureichend, um einen symmetrischen Zustand zu erzeugen. Allerdings entstehen dicephale Embryonen in der dreifach-Mutante *swa-BicD-stau*; in *swa* erscheint daher mehr *bcd*-abhängige Restpolarität erhalten, die durch die invertierte polplasmaabhängige Polarität der Kombination *BicD-stau* kompensiert werden muß, um einen symmetrischen Zustand zu erreichen.
- In Transplantationsversuchen findet sich in *swa* mehr *bcd*$^+$-Aktivität am anterioren Pol als in *exu*.

Die Unterschiede deuten darauf hin, daß in *swa* Eiern insgesamt mehr *bcd*$^+$ Aktivität enthalten ist als in *exu*, und daß diese Aktivität weniger homogen verteilt ist. Dies wird durch In-Situ-Hybridisierungen bestätigt, die in *exu* eine homogene, in *swa* eine leicht inhomogene Verteilung der bcd RNA in jungen Eiern zeigen; im synzytialen Blastoderm findet sich jedoch auch in *exu* eine nach hinten kontinuierlich abfallende Konzentrationsverteilung der bcd RNA, und die Inhomogenität in *swa* ist verstärkt (Berleth, Thoma pers.Mittlg.). Wahrscheinlich sorgt das Polplasma für die sekundäre Ungleichverteilung durch Abbau der *bcd* RNA im posterioren Bereich. Eine Umverteilung der RNA wäre eine alternative Erklärung, die jedoch auch den polarisierenden Einfluß des Polplasmas mit einbeziehen müßte. Ob der Mechanismus, der

anteriore Strukturen bevorzugt in terminalen Regionen entstehen läßt, in Abwesenheit von *exu* und *swa* noch funktioniert, ist nicht untersucht.

Abschließende Hypothesen: In der Mutante *dicephalic* werden Nährzellen an den zwei Enden des Eifollikels ausgebildet, mit der Folge, daß dicephale Embryonen gebildet werden können (Penetranz gering)(Lohs-Schardin 82, Frey et al.84). Das prospektive anteriore Ende des Embryos wird offenbar durch die Lage der Nährzellen zur Oozyte festgelegt. Um die Lokalisation der *bcd* RNA zu erklären, muß kein spezielles anteroposteriores Transportsystem in der Oozyte angenommen werden. Die Fixierung der RNA nach Eintritt in die Oozyte an deren anterioren Rand erscheint ausreichend.

Mutationen in *exu* und *swa* verhindern die Lokalisation der *bcd* RNA am anterioren Ende. *swa* betrifft primär mehr generelle Funktionen, die für den Aufbau verschiedener Strukturen im Ei nötig sind. *exu* ist direkt für die Lokalisation von *bcd* zuständig und hat möglicherweise eine Schutzfunktion für *bcd* Moleküle, so daß in *exu*$^-$ eine geringere *bcd*$^+$ Menge vorhanden ist als in *swa*$^-$. Abdominale Faktoren erzeugen sekundär eine Ungleichverteilung von *bcd* RNA in *exu* und verstärken eine solche in *swa*. Amorphe *swa* Allele würden möglicherweise jede Entwicklung der Embryonen über das Gastrulastadium hinaus unterbinden.

6. *bcd* - Verteilung und Variation des Phänotyps

Die Menge der *bcd* Aktivität bestimmt die Größe der Kopf-Thoraxregion, ihre Lokalisation die Polarität der anterioren Strukturen. Die gradientenförmige Verteilung des *bcd* Proteins erfüllt die räumlichen Voraussetzungen zur Erledigung dieser Aufgaben. Darüberhinaus scheint die *bcd* Verteilung die innere Organisation der Kopf-Thoraxregion zu spezifizieren. Dies wird am besten anhand von Phänotyp und Anlagenplanveränderungen in *exu* und *exu-bcd*^{w} Embryonen deutlich: Ein Teil der anterioren terminalen Anlagen wird eliminiert, die Anlage der dahinterliegenden Strukturen ausgedehnt. Die (maximale) *bcd* Konzentration am Vorderpol bestimmt, welche der anterioren Strukturen (Segmente) noch gebildet werden können. Ähnliche phänotypische Effekte können durch breite Verteilung der *bcd*$^+$-Zytoplasmaaktivität in injizierten Embryonen simuliert werden. Die Anlagenplanveränderungen in *exu* zeigen, daß die Verteilung von *bcd*$^+$-Aktivität maßgebend für die relative Größe von Teilregionen des Kopf-Thoraxbereiches

ist. In der allelischen Serie von *bcd* können 3-4 Regionen unterschieden werden, die unterschiedlich sensitiv auf die Reduktion von *bcd*$^{+}$-Aktivität reagieren: Procephalon-(Antenne)-Kieferregion-Thorax. Damit erscheint naheliegend, daß der *bcd* Gradient die Unterteilung der anterioren Eiregion in mehrere Subregionen besorgt.

Unterschiede in der Streuung des Defektmusters finden sich zwischen verschiedenen Allelen. Soweit morphologisch auflösbar, betrifft diese Eigenschaft das ganze Muster; z.B. ist in *bcd*^{E5} nicht nur der Thorax, sondern auch das Abdomen im Vergleich zum Kopf relativ stark betroffen. Diese Mutationen produzieren also primär keine regionsspezifischen Defekte. Mögliche Ausgangspunkte für solche Störungen sind eine veränderte effektive Verteilung (z.B.durch veränderte Stabilität der diffundierenden Moleküle), ein verändertes Verhältnis zwischen Verteilung und Wirkung (welches von einer Dimerisierung der Moleküle abhängig sein kann), oder eine veränderte Wechselwirkung mit posterioren maternalen Faktoren. Eine verringerte mittlere Überlebensdauer der translatierten *bcd* Moleküle könnte zu Gradienten mit geringer Reichweite, aber relativ hohem Maximum führen und so *bcd*^{E5}-ähnliche Phänotypen erklären.

7. *tsl* - terminale Regionen

bcd^{S} Embryonen bilden an beiden Enden des Embryos ein Telson aus. Diese verschwinden in der Doppelmutante *bcd-tsl*. Die autonome *bcd*-unabhängige Funktion von *tsl* erscheint dadurch symmetrisch und führt zur Anlage einer Telsonregion an beiden Enden des Embryos. Das Telson ist als selbstständige morphologische Einheit abgrenzbar: Sowohl anteriore wie auch posteriore Strukturen können daran angrenzen, ohne daß die Ausbildung morphologischer Lücken oder das Aneinanderstoßen entgegengesetzter Polaritäten Wechselwirkungen wie Interkalation oder Polaritätsinversion hervorruft. In diesem Sinn einer selbstständigen Entwicklungseinheit umfaßt das Telson Tuft, Analplatten und Filzkörper, nicht aber das vDB^{A8}, entspricht also dem Telson der Doppelmutante *bcd-osk* und ist kleiner als die posteriore Ausfallregion in *tsl*.

Soweit die Unabhängigkeit des Telsons; wenn aber die terminale (im Normalfall anteriore) *bcd*$^{+}$ Konzentration ausreicht, um Kopfstrukturen zu induzieren, wird es in die anteriore terminale Struktur, Labrum, transformiert. Außerdem scheint *bcd* die Größe der *tsl*-abhängigen Region zu verkleinern. In schwachen *bcd* Alle-

len sind - in der Kutikula - weder labrale noch telsonale Strukturen zu erkennen. In *bcd*$^{+}$-*tsl*$^{-}$ werden posterior die Strukturen der hinteren 25-30% des Anlagenplans eliminiert, allerdings entfallen nach unserer Interpretation davon nur die letzten ≈20% auf das eigentliche *tsl*-abhängige Telson (Grenze ≈ A8). Zwar sind anterior Strukturen aus einem Bereich ähnlicher Größe betroffen; die ausgefallene Region aber genau abzugrenzen ist schwierig, da im kritischen Bereich die ausgedehnten Strukturen VP und DA nur partiell eliminiert sind (VP,DA ≈ 75% EL), und die davor liegende neurogene Region keine kutikularen Marker enthält. Die Kopffalte ist nur geringfügig nach vorne verschoben, kaum mehr als in *bcd*$^{-}$/+ Abkömmlingen. Tatsächlich sind als einziges die Strukturen des Labrums vollständig eliminiert; der Vordere Mitteldarm und auch das Stomodäum, dessen Anlage sich an der vorderen Eispitze befindet, sind nur partiell reduziert. Folgende Erklärungen können für das Fehlen von Symmetrie in der Größe der anterioren und posterioren Ausfallzonen aufkommen:

- Die anteriore *tsl*-abhängige Region liegt weiter dorsal als die posteriore.
- *bcd* verändert den Wirkungsbereich der *tsl* - abhängigen Funktionen. Anterior ist daher tatsächlich ein kleinerer Teil des Anlagenplans von *tsl* abhängig als posterior.
- Zygotische Funktionen hängen vorne und hinten auf unterschiedliche Weise von der *tsl* Funktion ab; während posterior mehr Strukturen als die eigentliche *tsl* Domäne eliminiert werden (Unterschied zwischen posteriorer Ausfallregion und "eigentlichem" Telson) mag anterior ein umgekehrtes Verhältnis herrschen.
- Die *tsl* Allele sind nicht vollkommen amorph, und die anteriore Region benötigt weniger Aktivität. Daher wird anterior in den Mutanten nicht die gesamte *tsl*-abhängige Domäne eliminiert.

Ich bevorzuge Punkt 2 als wichtigste Erklärung. Da sich das *Drosophila*-Telson durch Anlagerung der abdominalen Segmente 9-11 an die posteriore nichtsegmentale Region (Telson i.e.S, Jürgens 87) entwickelt hat, müssen die terminalen Regionen fähig gewesen sein, unabhängig voneinander in der Evolution ihre Größe zu verändern.

Auch in Anwesenheit von *bcd*$^{+}$ zeigen die beiden terminalen Regionen einige Ähnlichkeiten miteinander:

- Das Segmentierungsgen *tailless* (Strecker et al.86) und das

homöotische Gen *fork head* (Jürgens pers.Mittlg.) betreffen beide die zwei terminalen Regionen.

- Vorderer und Hinterer Mitteldarm sind bis kurz nach Gastrulationsbeginn als äquipotente Zellpopulationen spezifiziert (wenigstens teilweise, siehe Technau und Campos-Ortega 86).
- Das regelmäßige Streifenmuster der Paarregel-Gene erstreckt sich nicht bis in die terminalen Regionen.
- Die beiden am weitesten terminal liegenden Elemente, Labrum und Tuft, sind beides dorsale Strukturen, denen keine ventralen Strukturen gleichen anteroposterioren Positionswerts zugeordnet werden können (Jürgens et al.86, Jürgens 87). Möglicherweise ist in beiden Regionen die Abgrenzung segmentartiger Einheiten von dorsoventraler Positionsinformation abhängig (Ingham et al.85b).

Die Beziehung zwischen diesen Gemeinsamkeiten und der Funktion von *tsl* (bzw. *tor*) bleibt unklar.

8. *tsl* - und andere Gene der *torso*-Gruppe

Mutationen in 5 maternalen Genen erzeugen den torso -Phänotyp. Amorphe Mutationen in *fs(1)N* und *fs(1)pole hole (ph)* führen allerdings zu kollabierten Eiern, in denen sich keine Embryonen entwickeln; nur die (hypomorphen?) Allele $fs(1)N^{211}$ und $fs(1)ph^{1901}$ produzieren homozygot und in transheterozygoten Kombinationen den torso-Phänotyp (Degelmann et al.86, Perrimon et al.86). Soweit bekannt erzeugen alle amorphen und hypomorphen Allele von *trk*, *tor* und *tsl* den torso-Phänotyp (Schüpbach und Wieschaus 86). Bei *fs(1)N* (Degelmann et al.86) wurden durch Hybridisierung von *ftz* RNA ähnliche Anlagenplanveränderungen nachgewiesen wie in *tor* (Hiromi pers.Mittlg., siehe B-III-33). Bei allen 5 Genen tritt zugleich mit dem torso-Kutikulaphänotyp der Zellularisierungsdefekt im Bereich der Polzellen ("pole hole") auf. Bei Kombination von starken Allelen verschiedener Loci ergibt sich (soweit getestet) keine gegenseitige Verstärkung.

Als zygotisch letale Mutationen wurden die Allele des Gens *l(1)pole hole (ph)* isoliert (*l(1)ph* ≠ *fs(1)ph* !). In Embryonen, die sowohl maternal (Keimbahnklone) als auch zygotisch homozygot mutant für *l(1)ph*$^-$ sind, ist die Migration der Furchungskerne an die Peripherie und die Zellularisierung gestört, so daß ausdifferenzierte Embryonen nur stellenweise Kutikula besitzen, weite Bereiche (vorwiegend ventral) aber abgestorben sind. Werden die

Eier von Spermien mit 1 oder 2 Kopien *l(1)ph*$^{+}$ befruchtet, so entsteht ein Embryo mit torso-Phänotyp; das Blastoderm bleibt dabei, abgesehen von dem torsospezifischen "pole hole", normal. Ist nur die Zygote homozygot mutant (maternal wenigstens 1 Kopie *l(1)ph*$^{+}$), so sterben die Tiere meist im Puppenstadium, und zwar offenbar an Störungen in der Zellproliferation; die Mitosen im Gehirn sind reduziert, und die Imaginalscheiben bleiben winzig (Perrimon et al.85).

Trotz des einheitlichen torso-Phänotyps unterscheiden sich die 6 Gene deutlich im amorphen Phänotyp und in ihrer Expression im Lebenszyklus von *Drosophila*. Ähnlich wie *swa* nicht primär, oder jedenfalls nicht ausschließlich für die Koordination der *bcd* Funktion gebraucht wird, scheinen *auch fs(1)N, fs(1)ph* und *l(1)ph* keine primär morphogenetische Funktion zu haben. Aufgrund des antimorphen Phänotyps von *tor*^{RL3} und anderer dominanter *tor* Allele mit ähnlichen Phänotypen (Klingler, Szabad persönl. Mittlg.), ist zu vermuten, daß wenigstens das Gen *tor* eine spezifische morphogenetische Funktion erfüllt. *tor*^{RL3} hat (im Unterschied zu *tsl*) eine temperatursensitive Periode nach der Eiablage (Klingler pers.Mittlg.).

In *fs(1)N*^{211} ließen sich Defekte in der Vitellinmembran (oder Oolemma?) feststellen (Kern, Degelmann persönl.Mittlg.); die Umhüllung des Eies erwies sich als durchlässig gegen kleine Farbstoffmoleküle. Daß *tsl* nicht keimbahnletal ist, läßt plausibel erscheinen, daß es ebenfalls primär für den Aufbau der Vitellinmembran zuständig ist und nicht primär morphogenetisch wirksam wird.

9. *tsl* - Injektionen

Der Versuch, die Funktion eines Gens durch seine Zuständigkeit für eine bestimmte Region im Embryo zu erklären, zielt letztlich auf die Lokalisierung eines genabhängigen Faktors in dieser Region ab. Für *tsl* ließ sich zeigen, daß Faktoren der prospektiven Telsonregion den posterioren Defekt in *tsl* reparieren konnten (Typ p-->p, in D-IV). Die Versuche sind im Vergleich zu den *bcd* Transplantationen noch sehr unvollständig. Folgende Probleme bleiben offen:

- Die postulierte symmetrische Organisation der *tsl*-abhängigen Funktionen schlägt sich nicht in Normalisierungserfolgen bei Transplantationen vom Typ p-->a, a-->a oder a-->p nieder. Die

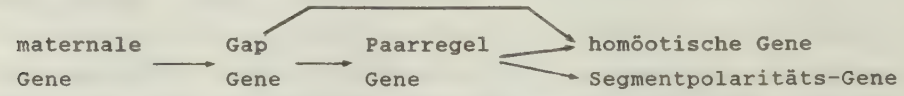
Schwierigkeiten, die Labralregion zu normalisieren, sind allerdings nicht verwunderlich, denn dort wird das Zusammenwirken *tsl*-abhängiger und *bcd*-abhängiger Faktoren benötigt (was während der Durchführung der *tsl*-Injektionen noch nicht klar war). Da bei der Transplantation die endogene *bcd*-Aktivität aus ihrer Position an der Eispitze verdrängt wird, konnte grundsätzlich nur in der Version a-->a ein Erfolg eintreten, wie die Experimente mit *tor* bestätigen. a-->a-Versuche in *tsl* müßten mit jungen Donoren wiederholt werden, die noch ausreichend bcd^+ Aktivität enthalten. Bleibt das Versagen der Transplantation a-->p; möglicherweise sind aufgrund des Einflusses von *bcd* anterior weniger *tsl*-abhängige Faktoren verfügbar und notwendig (siehe oben).

- Durch Testen junger unbefruchteter Donoreier bleibt noch sicherzustellen, daß nicht zygotische Genprodukte die transplantierbare Aktivität ausmachen. Da sich junge Eier in den Vorversuchen als relativ uneffektive Donoren anstellten, sieht es so aus, als ob sich die *tsl*-abhängigen Faktoren erst relativ spät nach der Eiablage (≈S4) am Hinterpol anreichern.
- Eine symmetrische Organisation der Terminalregionen müßte nicht auf prälokalisierte Determinanten zurückgreifen, sondern könnte sich allein an der Eiform orientieren. Benötigt würden allerdings Wechselwirkungen, die die beiden polaren Konzentrationsbereiche auf Distanz halten. Ein solcher Mechanismus könnte implizieren, daß *tor*-abhängige Faktoren, die auf beide Pole verteilt sind, sich gegenseitig aktivieren: In *tsl* und *bcd-osk-tsl* Embryonen traten nach Injektion in die anteriore Spitze Filzkörper am posterioren Ende auf. Telsonstrukturen finden sich gelegentlich in tsl^{035}, gehäuft jedoch in bcd^3-tsl^{035}, und zwar gehäuft an beiden Enden, obwohl die Wirkung von *bcd* vermutlich nicht bis ganz an das hintere Ende des Eies reicht. Diese Beobachtungen sind teils nicht signifikant, teils schwer zu interpretieren. Sie können jedoch vielleicht erklären, warum *tsl* Embryonen relativ schwer zu normalisieren sind (gemessen am zu transplantierenden Volumen), solange nur an einem ihrer beiden Enden Zytoplasma injiziert wird.

Die Verwendung von *tsl*-Duplikationen oder von tor^{RL3} als Donoren eröffnet vielleicht effektivere Wege, um die *tsl* bzw. *tor* Funktionen in Transplantationsexperimenten zu testen. Kritisch für die aufgeführten Interpretationen wären erfolgreiche Transplantationen vom Typ a-->p.

10. Zygotische Segmentierungsgene

Fig.402 gibt die Einordnung der zygotischen Genfunktionen in eine hierarchische Abfolge entwicklungsbiologischer Entscheidungen. Die Zuordnung einzelner Gene zu einer bestimmten Klasse ist nicht immer eindeutig; im übrigen sind die Grundzüge dieser Hierarchie bislang ohne Alternative:



Bei den beiden bisher klonierten Gap Genen, *hb* und *Kr*, ist die Ausfallzone sehr viel größer als die transkriptionsaktive Region. Nicht die Ausfallzonen, wohl aber die Transkriptionsbereiche von *hb* und *Kr* bilden miteinander eine scharfe Grenze aus (Jäckle et al.86, Fig.2,404). Die Ausbreitung des Segmentierungsdefekts in Regionen, die selbst das Genprodukt nicht exprimieren, läßt sich am besten so erklären, daß gerade die Grenze zwischen zwei Gap Genen als Orientierungspunkt für die repetitive Expression der Paarregelgene dient, so daß bei Verlust dieser Grenze beiderseits davon die Segmentierung mißlingt (Meinhardt 86, Ingham et al.86). Verallgemeinerung der Ergebnisse von *hb* und *Kr* führt zu der Vorstellung, daß die Längsachse des Embryos auf der Ebene der zygotischen Gap Gene in etwa 4-6 Gap Bereiche (Kardinalregionen, Meinhardt 86) mit je drei segmentalen Einheiten zerfällt. Die Ausweitung der Expression von *Kr* in *knirps (kni)* Embryonen (Jäckle et al.86, Fig.404), ist ein gutes Indiz, daß sich unmittelbar hinter Kr der Expressionsbereich von kni anschließt. Segmentierungsdefekte in weiter distal gelegenen Bereichen des Embryos werden durch Mutationen in *giant (gt)* (Gergen und Wieschaus 86) und *tailless (tll)* (Strecker et al.86) verursacht. Inwieweit diese Gene funktionell als äquivalent zu *hb*, *Kr* und *kni* angesehen werden können, bleibt offen. Aber allen diesen Genen gemeinsam ist, daß sie das Expressionsmuster von *ftz* verändern (Carroll and Scott 86, Ingham et al.86, Mahoney und Lengyel 87).

Die Untersuchung der maternalen Mutanten gibt nur indirekte Hinweise auf die Funktionsweise der Gap Gene. Aber unter der Voraussetzung, daß auch in maternalen Mutanten mit stark verändertem Anlagenplan die Korrelation zwischen der Expression eines Gap Gens und den Strukturen, die aus dieser Region hervorgehen, unverändert bleibt, lassen sich folgende Überlegungen anstellen:

- Alle *hb* -abhängigen Strukturen (der vorderen Domäne) sind in bcd^S eliminiert; in hypomorphen *bcd* Allelen sind sie im Anlageplan nach vorne verschoben. Vermutlich bestimmt *bcd* Aktivität die Lage von Vorder- und Hintergrenze der *hb* Expression, während in bcd^S Embryonen *hb* (anteriore Domäne) nicht exprimiert wird.
- In bcd^W Embryonen können Thoraxdefekte auftreten, ohne daß die blastodermale Anlage des Thoraxes verkleinert ist (z.B. bcd^{E5}/ bcd^{DfLIN}, Fig.403). Das heißt, daß auch im anterioren Bereich des *bcd*-Phänotyps Musterdefekte nicht nur auf der Reduktion von Anlagen, sondern auch auf anderweitigen Segmentierungsdefekten, wie z.B. dem Einfluß von *hb* auf den Thorax, beruhen können.
- *Kr*-abhängige Strukturen und diejenigen Parasegmente, in denen *Kr* normalerweise exprimiert wird, fehlen in bcd^S nur zum Teil. Die Verschiebung abdominaler Anlagen macht wahrscheinlich, daß auch die Lokalisierung von *Kr* direkt *bcd*-abhängig ist (während der Ausfall der Thoraxsegmente auch durch das Fehlen von *hb* erklärt werden könnte). Insbesondere die Dehnung der thorakalen Anlagen in *exu* zeigt, daß *bcd* posterior von *hb* Einfluß ausübt (Fig.404), der nicht durch eine *hb*-abhängige Kette von Wirkungen erklärt werden kann:

  bcd --> *hb* --> *Kr* (keine mögliche Erklärung)

  Wahrscheinlich legt *bcd* direkt die Vordergrenze der Expression von *Kr* fest.
- Doppelmutanten von *Kr* mit *osk* oder *bcd* zeigen, daß *Kr* in beiden Mutanten exprimiert wird und für die Bildung von Thorax, bzw. anteriorem Abdomen gebraucht wird. Damit erscheint die Expression von *Kr* als eine Art Grundzustand einer Zelle (bzw. eines Zellkerns), der weder den Einfluß abdominaler, noch den Einfluß anteriorer maternaler Faktoren benötigt.
- Für den Einfluß von *bcd* auf das Abdomen, d.h. auf die Position der Vordergrenze des Abdomens, sind mehrere Arten von Funktionsketten vorstellbar, z.B.:

  bcd --> *Kr* (posteriore Grenze) --> abdominale Gap Gene

  Wenn *Kr* bei niedrigen Werten, bzw. in Abwesenheit von *bcd*' Aktivität exprimiert wird, kann *bcd*' aber nicht die posteriore Grenze der *Kr* Expression kontrollieren. Denkbare bleiben zwei andere hierarchische Ketten, die beide eine direkte Wirkung von *bcd* auf abdominale maternale Faktoren annehmen:

  bcd --> mat.abd.Fakt.-->abd.Gap Gene -->*Kr* (posteriore Grenze)

  bcd --> mat.abd.Fakt.-----[direkt]----->*Kr* (posteriore Grenze)

Fig.403 Expressionsmuster von *ftz*

Die Daten beruhen auf Darstellung der *ftz*-Expression mit *ftz*-Antikörpern (Frohnhöfer und Nüßlein-Volhard, in Vorbereitung). Die Ergebnisse stimmen weitgehend mit den Daten in Fig.112 überein.

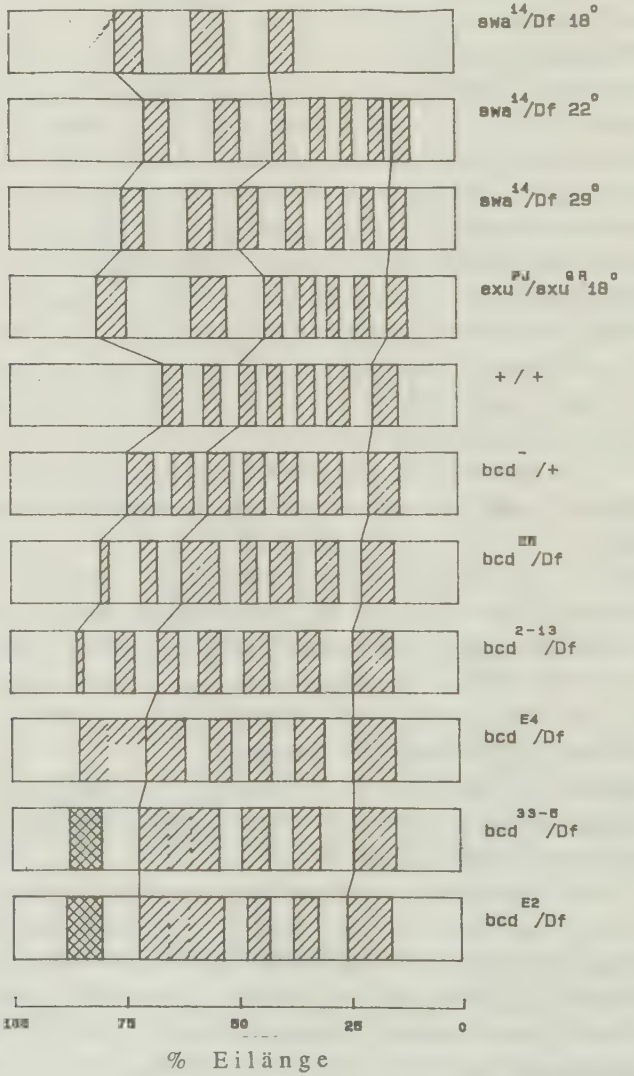
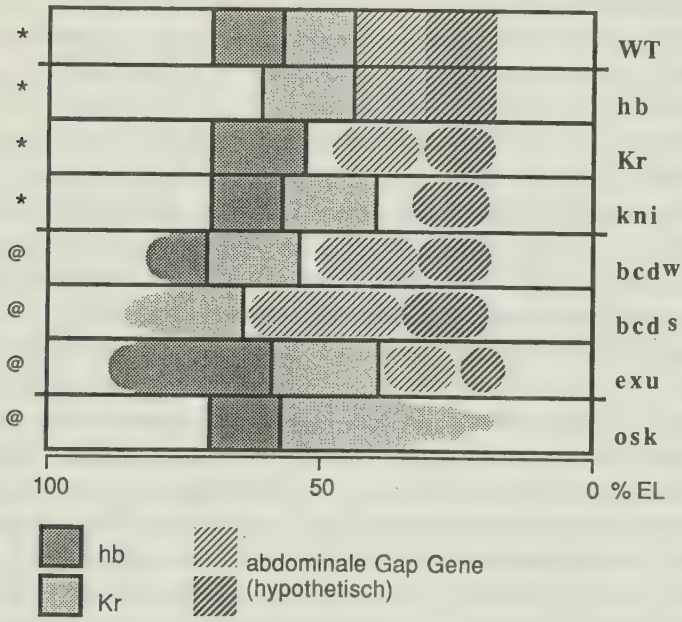


Fig.404 Veränderungen in der Expression von Gap Mutanten

* Die Expression von *Kr* und *hb* in *WT* und Gap Mutanten wurde durch In-Situ Hybridisierung untersucht (Jäckle et al.86).

@ Übersetzung der durch *ftz* Expression gemessenen Anlageplanveränderungen in ein hypothetisches Muster der Gap Gen Expression, unter der Annahme, daß das Verhältnis zwischen Expression und exprimierten Strukturen, sich nicht ändert (dicke Grenzlinien). Am Vorder- (*bcd, exu*) bzw. Hinterrand (*osk*) des Musters fehlen morphologische Grenzen, und das Scheme mußte nach den im Text beschriebenen theoretischen Vorstellungen ergänzt werden (offener, gelappter Rand).



Nach diesen Vorstellungen übt *die bcd* Aktivität nur einen negativen Einfluß auf die Expression von *Kr* aus und beschränkt dadurch dessen Ausbreitung nach vorne. Bei der Induktion anteriorer Strukturen am Hinterende induziert sie die Transkription von *Kr* nur indirekt - durch die Suppression abdominaler Faktoren, deren eigene negative Wirkung auf *Kr* dadurch aufgehoben wird.

11. Abdominale Faktoren

Abdomeninduzierende Faktoren lassen sich in hoher Konzentration im posterioren Polplasma finden, eine etwa 30-fach geringere Aktivität (grobe Abschätzung) ist über die hintere Hälfte des Eies verteilt.

Experimentell ungenügend abgesichert sind die folgenden drei Beobachtungen:

- Abgesehen vom Polplasma, scheint auch im niedrig aktiven Bereich eine Graduierung der abdominalen Faktoren zu bestehen (Fig.314, Fig.315, Fig.318).
- In bcd^{E1}/bcd^{E2} Embryonen ist die abdominale Aktivität etwas geringer (Fig.314).
- In *exu* scheint sich die abdominale Aktivität bis in die vordere Eihälfte zu erstrecken (Fig.318). Es ist daher auch für den Wildtyp anzunehmen, daß das Verbreitungsgebiet der abdominalen Faktoren mit dem *bcd* Proteingradienten überlappt.

Bei starker abdominaler Induktion an beiden Enden des Embryos entstehen kurze, symmetrisch bicaudale Embryonen (meist 2,5A:2,5A). Es werden also nur Abdominalsegmente gebildet, die unabhängig von *Kr* sind. In Gradientenbeschreibung entspricht dieser Phänotyp einem Zustand, bei dem das Ei weitgehend mit abdominalen Faktoren angefüllt ist. Möglicherweise ist aber keine bipolare Verteilung der maternalen Faktoren für diesen Phänotyp von Nöten. Die Grenzen zwischen der Abdominalregion und den Telsonregionen könnten ausreichen, um den symmetrischen Endzustand zu organisieren. Damit wird es möglich, kurzsegmentige bicaudale Embryonen in Genotypen zu erklären, bei denen nicht mit einer duplizierten Polplasma-Aktivität am anterioren Pol zu rechnen ist: z.B. *bcd/bcd;Kr/Kr* und bcd^{GB}/bcd^{GB}, oder *bcd-osk* Embryonen, denen posterior Polplasma injiziert wurde. Da für die Ausbildung dieser Phänotypen vermutlich die Expression von *knirps* erforderlich ist (siehe *BicD-kni*, Lehmann 85), ist die vorgeschlagene Erklärung für den symmetrischen Zustand nicht ohne

weiteres vereinbar mit der Annahme von 2 Gap Genen in der Abdominalregion. Vielleicht sind die Gap Gene doch nach Tagmata und nicht nach technokratischen Abständen von je drei Parasegmenten angeordnet. Ein großes "abdominales Gap" könnte die Ausbildung bicaudaler Symmetrie unter verschiedenen Bedingungen begünstigen (siehe unten: "Anmerkung"). Eine Einteilung in "Gaps" von drei Parasegmenten erscheint nur für die Spezifizierung der Segmentqualität, nicht aber für die Segmentierung als solche erforderlich. Phänotypen wie in Fig.313c könnten bedeuten, daß Segmentierung und Bestimmung der Qualität im Abdomen weniger eng gekoppelt sind als etwa im Thorax.

Nicht alle maternalen posterioren genetischen Faktoren wirken auf das Polplasma oder vom Polplasma aus. Das Gen *caudal* wird für die Bildung von Telson und posteriorem Abdomen benötigt (Macdonald und Struhl 86). *caudal* wird sowohl zygotisch wie auch maternal exprimiert. Die Genprodukte von *caudal* - RNA und Protein - bilden im Ei während der Furchung einen Gradienten aus (Mlodzik et al.85, Macdonald und Struhl 86). Die Bildung des Gradienten ist unabhängig vom posterioren Polplasma (Struhl pers.Mittlg.) und vollzieht sich möglicherweise unter dem Einfluß von *bcd*. Der Gradient stellt aber nur einen Teil des *caudal*-Expressionsmusters dar. Andere (zygotische) Anteile des komplizierten Expressionsmusters liegen im *tsl*-abhängigen Telsonbereich. So kann *caudal* vielleicht einen Teil der Wirkungen von anteriorer und posteriorer Nachbarregion auf das Abdomen erklären (nicht jedoch den Suppressionseffekt von *bcd*).

Anmerkung zu symmetrischen Zuständen: Symmetrische Phänotypen mit hohen (anterioren oder posterioren) Positionswerten sind auf verschiedene Weise erklärbar. (1) Die Quellen maternaler Faktoren sind bipolar verteilt [Bsp.: *dicephalic*, *Bicaudal-D*]. (2a) Nicht bipolar vorgegebene Quellen führen zu einer bipolaren Verteilung maternaler Signale, z.B. weil terminal physiologisch günstigere Bedingungen für die Produktion der Signale herrschen [mögliche Erklärung für "symmetrischen Effekt" in Fig.305c; Bsp.: symmetrische Phänotypen nach Injektion in *bcd-osk* (?)]. (2b) Bei quasihomogen vorgegebenen maternalen Signalen entsteht ein symmetrischer Phänotyp [z.B. in *exu-osk*, bcd^{GB} (?)]. (3) Morphogenetische Zentren duplizieren sich nach dem Prinzip der lateralen Aktivierung (Meinhardt 77). Ob Fall (2a) oder (2b), Fall (1) oder (2b) vorliegt, ist oft nur schwer zu unterscheiden. Ein Verhalten nach (3) ist für die anteriore Aktivität weitgehend auszu-

schließen und wird zur Erklärung bicaudaler Phänotypen nicht benötigt.

12. Dorso-ventrale Achse

Zur Erzeugung des embryonalen Musters ist neben der anteroposterioren Unterteilung noch die dorsoventrale Spezifizierung erforderlich. Ein Vergleich der beiden Musterbildungssysteme fördert einige charakteristische Unterschiede zu Tage:

- Die Dorsoventralachse ist (morphologisch) nicht aus metameren Einheiten aufgebaut. Das Muster der gesamten Achse läßt sich daher vielleicht eher mit dem Muster eines einzelnen Segments vergleichen.
- Auf der Ebene der maternalen Gene ist die Achse nicht aus verschiedenen, voneinander unabhängigen Domänen aufgebaut. Mutationen in einem dieser Gene eliminieren die Erzeugung unterschiedlicher Positionswerte im ganzen Bereich (Anderson und Nüßlein-Volhard 84).
- Zwar wird eine dorsoventrale Asymmetrie bereits während der Oogenese festgelegt, doch gibt es keine Hinweise auf streng lokalisierte Quellen, von denen aus Gradienten erzeugt werden könnten. Dagegen ist mit dem Gen *Toll*, dem autokatalytische Eigenschaften zugeschrieben werden (Anderson et al.85a & b), Evidenz für ein sich selbst organisierendes Gradientensystem gegeben (Mundry 84).
- Für die Differenzierung von Strukturen ist keine Polarität erforderlich. Offenbar gibt es keinen Zustand des maternalen Positionsinformationssystems, bei dem keine Strukturen mehr gebildet werden (Anderson et al.85b).
- Die zygotischen Gene des Dorsoventralsystems sind schwierig zu untersuchen wegen der geringen Zahl unterscheidbarer Musterelemente entlang der dorsoventralen Achse. Von den während der Gastrulation aktiven Genen zeigen die meisten mutanten Phänotypen die deutlichsten Defekte in den ventralen oder dorsalen Randbereichen des Musters; dagegen zeichnet sich kein System von Gap-Phänotypen ab, deren Ausfallregionen zusammen das gesamte Muster abdecken (Frohnhöfer 1982, Doyle et al.86, Arora pers.Mittlg.).

13. Vergleich mit anderen Insekten

Die Entwicklung der anteroposterioren Achse in pterygoten Insekten scheint in einer Vielzahl von Ordnungen von einem posterioren

Organisationszentrum abzuhängen (Seidel 29, Review Sander 76). Anwendung in vielen Spezies erlangten Schnürexperimente, in denen nach Abtrennung des posterioren Pols die Entwicklung des anterioren partiellen Keimstreifs untersucht werden konnte. Je länger der posteriore Pol mit dem anterioren Eifragment in Kontakt blieb, desto weniger posteriore Segmente fehlten später dem Embryo des anterioren Fragments. Ein umgekehrter Effekt des anterioren Pols auf posteriore Eifragmente war in *Acheta* (Review Sander 76), einem Insekt mit panoistischer Oogenese, nicht zu entdecken, fand sich aber in paraneopteren und holometabolen Insekten mit meroistischer Oogenese [z.B. *Euscelis* (Homoptera) (Sander 59, 60), *Bruchidius* (Coleoptera)(Jung 66), *Drosophila* (Diptera)(Herth und Sander 73, Schubiger et al.77)], so daß Sander ein 2-Gradientenmodell diskutieren konnte, um das Zusammenwirken der beiden Pole zur Herstellung des Longitudinalmusters zu erklären. Innerhalb der Dipteren fand sich direkte Evidenz für ein anteriores morphogenetisches Zentrum bei den Nematoceren *Smittia*, *Chironomus* und *Sciara* (Yajima 60, Yajima 64, Kalthoff und Elbetieha 86, Perondini et al.87). Die anterioren Determinanten in *Smittia* sind UV- (Kalthoff 68) und RNAse-sensitiv (Kandler-Singer und Kalthoff 76); sie werden durch Auslaufen von anteriorem Zytoplasma abgeschwächt (Schmidt et al.75). In *Chironomus* sind die anterioren Determinanten transplantierbar (Kalthoff und Elbetieha 86) und im Bereich eines Zytoplasmakonuses abgelagert (Zissler und Sander 73), der vom Nährzellzytoplasma abstammen soll.

In *Acheta* scheinen die posterioren Faktoren ausreichend, um das gesamte Muster zu organisieren, während in *Euscelis* anteriore und posteriore Faktoren zusammenwirken müssen, um die Kopfregion zu spezifizieren. In *Drosophila* sind anteriore und posteriore Faktoren noch unabhängiger voneinander geworden, und das Ei ist in eine anteriore und eine posteriore Domäne geteilt. Die relative Beteiligung anteriorer und posteriorer Signale an der Spezifizierung der anterioren Körperregionen in unterschiedlichen Insektengruppen scheint verschieden zu sein. Allerdings können mit der Schnürmethode nur polare Einflüsse entdeckt werden, die sich bei Eiablage noch nicht über das Ei ausgebreitet haben. Und da sich zwei Gradienten gegenseitig polarisieren können, ist es zweitens nicht möglich abzugrenzen, welcher Pol für welche Körperregion spezifische Instruktionssignale liefert. So ist denkbar, daß *bcd*-homologe Funktionen in allen Insekten unabkömmlich sind, um Kopf

und Thorax zu bilden, daß die *bcd*-homologen Moleküle in den Eiern "einfacher" Insekten aber zunächst homogen verteilt sind und erst sekundär durch posteriore Einflüsse eine polarisierte Verteilung annehmen (wie in *exu*). Möglich erscheint auch, daß *bcd* keine zentrale Rolle in der Konstruktion des Insektenbauplans einnimmt und seine Rolle als anteriorer Faktor zunächst nur einnahm, um die Verteilung posteriorer Faktoren zu stabilisieren.

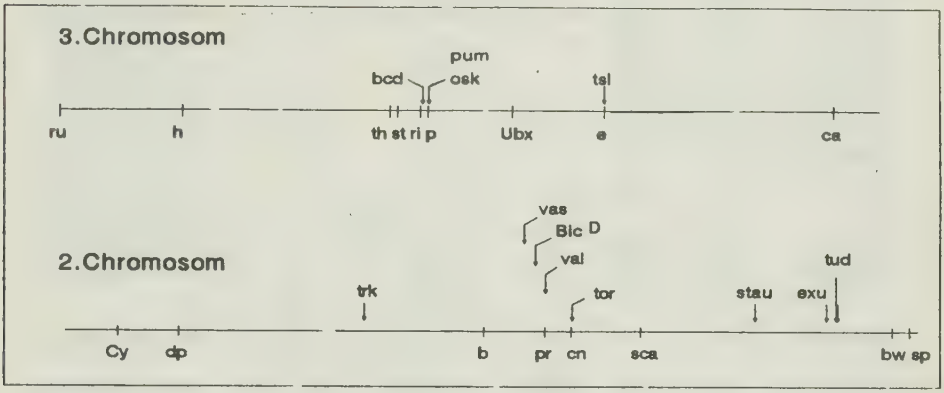
In Embryonen mit kurzem Keimstreif ist die Rolle der terminalen Zentren vollends unklar. In vielen (allerdings nicht holometabolen) Insekten ist die Anlage des Keimstreifens so klein, daß das Gesamtei als Bezugssystem für die Anlage des embryonalen Musters denkbar ungeeignet erscheint. Allerdings ist bislang nicht ausreichend geklärt, ob die Determination der Zellen (Segmentierung) vor oder nach dem Zusammenscharen zum Keimstreif erfolgt (trotz Anderson 73). In einigen (und zwar auch holometabolen) Insekten können Störungen in der Entwicklung zu ektoper Anlage eines Keimstreifen führen (Review Sander 76). In Atrachya (Chrysomelidae) kann sich ein vollständiger Keimstreif in verschiedenen Regionen des Eies bilden und scheint weder von der anterioren noch der posterioren Polregion des Eies abhängig. Sowohl nach Schnürungen wie nach Kälteschock können sich mehrere Keimstreifen in einem Ei ausbilden (Miya und Kobayashi 65,74). Bei diesem Entwicklungstypus können sich die embryonalen Anlagen offenbar lokal im Ei organisieren; möglicherweise müssen alle wesentlichen morphogenetischen Funktionen dazu zygotisch exprimiert werden.

F) MATERIAL UND METHODEN

I MUTANTEN UND STÄMME

1. Wildtyp, Marker, Balancer

Oregon R wurde als Wildtypstamm von *Drosophila melanogaster* verwendet. Markermutationen und Balancer sind in Lindsley & Grell (68) und Lindsley & Zimm (86) beschrieben. Die beigefügte Skizze beschreibt die relative Lage von maternalen Genen zu den wichtigsten Markern:



2. Maternale Mutanten

Die untersuchten Mutanten stammen aus den folgenden Mutagenese Experimenten:

a: Screens für maternale Mutanten am I. Chromosom
 a1: Gans, Audit und Masson (75)
 a2: Komitopolou, Gans, Margeritis, Kafatos, Masson (83)
 a3: (nicht veröffentlicht, Ref.Perrimon et al.86)
b: Screen für maternale Mutanten am II.Chromosom
 (Schüpbach und Wieschaus 1986)
c: Screen für maternale Mutanten am III.Chromosom
 (Labor Nüßlein-Volhard, unveröffentlicht)
 d1: Allelscreen für u.a. *bcd* und *tsl*
 (Labor Nüßlein-Volhard, siehe Lehmann 1985)
 d2: Allelscreen für *cactus, staufen, torso* und *vasa*
 (Mayer, Lehmann, Nüßlein-Volhard, unveröffentlicht)
 d3: Allelscreen für *pumilio*, mit Isolation von starken *bicoid* Allelen aufgrund des dominanten Effekts während der Gastrulation
 (Lehmann, Frohnhöfer; siehe unten und Lehmann 1985)
e: Wieschaus und Nüßlein-Volhard, unveröffentlicht

zu d3: Homozygote ♂♂ (*th st cp in ri p*^{p} = th...p) wurden mit 35mM EMS mutagenisiert. In der F1 Generation wurden Einzelweibchen getestet:

$$\frac{pum^{680}}{TM3}\,♀♀ \times \frac{(th...p)^{*}}{(th...p)^{*}}\,♂♂ \longrightarrow \frac{pum^{680}}{(th...p)^{*}}\,♀ \times \frac{TM3}{TM1}\,♂ \longrightarrow \begin{cases} 18°: & pum \text{ Phänotyp?} \\ 27°: & \text{Kopffalte verschoben ?} \end{cases}$$

Starke Allele von *bicoid* verursachen dominant eine nach anterior verschobene Kopffalte. In etwa 1200 getesteten Einzelweibchen konnten eine Punktmutante (bcd^{23-16}) und eine Deletion *(Df(3R)LIN)* für *bicoid* gefunden werden. Fünf andere Weibchen produzierten Embryonen mit Bicaudal-Phänotyp. Zwei dieser fünf Mutanten konnten durch balancieren am II Chromosom in Linien stabil gehalten werden; vermutlich handelt es sich um *Bic-D* Allele.

Die folgende Tabelle gibt die in der Arbeit verwendeten Loci an. Für Allelbezeichnungen mit mehr als 4 Symbolen werden im Ergebnisteil häufig die ersten beiden Symbole als Abkürzung verwendet (z.B. *WK34 --> WK*).

Muta-Locus		Kart.	Allele	Marker	genese	Charakterisierung
Bicaudal-D	*Bic-D*	2-53	*7134*	*b cn*	e	-
			IIIE48	*pr cn sca*	e	-
Bicaudal-C	*Bic-C*	2-52	*WC45*	*cn bw sp*	e	-
bicoid	*bcd*	3-47	----> Fig.102 <---------			anteriores Muster
cactus	*cac*	2-53	*A2*	*b pr*	b	ventralisierend
dorsal	*dl*	2-53	*1*	*b pr cn* vg^D	e	dorsalisierend
exuperantia	*exu*	2-93	------>Fig.117<-----		b	Kopf reduziert
Nasrat	*fs(1)N*	1-03	*211*	*g f*	a3	*torso*-Gruppe
pole hole	*fs(1)ph*	1-16	*1901*	*v g f*	a3	*torso*-Gruppe
klarsicht	*kls*	3-0	-	*ru...bcd*	c	Dotterstruktur
ovo-D	*D1*	1-10	*D1*	*v*	a2	dom.fem.sterile
oskar	*osk*	3-48	*166*	*st ri roe* p^p	c	*oskar*-Gruppe
			301	*st ri roe*	c	
pumilio	*pum*	3-48	*680*	*ru st e ca*	c	*oskar*-Gruppe
staufen	*stau*	2-83	*HL54*	*cn bw*	b	*oskar*-Gruppe
			G2	*b pr*	d2	
			D3	*b pr*	d2	
swallow	*swa*	1-16	*1502*	*Fig.122*	a1	Kopf reduziert
			1497	*Fig.122*	a1	
torso	*tor*	2-57	*WK34*	*b cn bw*	e	*torso*-Gruppe
			PM51	*b cn bw*	b	
			RL3	*cn px sp*	b	(neo-/hypermorph)
torsolike	*tsl*	3-70	*135,146*	*th...p**	d3	*torso*-Gruppe
			übrige: Fig.127		c	
trunk	*trk*	2-36	*PI57*	*cn bw*	b	*torso*-Gruppe
tudor	*tud*	2-97	*WC8*	*cn bw sp*	e	*oskar*-Gruppe
vasa	*vas*	2-51	*PD23*	*cn bw*	b	*oskar*-Gruppe

* = *th st cp in ri* p^p

3. Zygotische Mutanten mit embryonalem Phänotyp

Locus		Kart.	Allel	Marker	Referenz	Charakter
BXC (Ubx)		3-59	Ubx^{79f}	*rucuca**	Jürgens unveröff.	homöotisch
(Ubx,abd-A)			Ubx^{C1}	-	Sanchez-H.et al.85	
(Ubx,abd-A)			Ubx^{109}	*gl e*	Lewis 78	
hunchback	*hb*	3-48	*14F21*	*st e*	Lehmann 85	gap
			9R12	*rucuca**	Lehmann 85	
knirps	*kni*	3-47	*1-19*	*st e*	Lehmann 85	gap
			14F107	*st e*	Lehmann 85	
Krüppel	*Kr*	2-108	*8*	*..If***	Preiss 85	gap
			X	*..If***	Preiss 85	
			XII	*..If***	Preiss 85	
tailless	*tll*	3-102	*L1022*	*st e*	Jürgens et al.(84)	(gap)

* = ru h th st cu e^s sr ca ** = b pr cn sca wxt If

4. Chromosomale Aberrationen

Aberrationen in den Regionen von *bcd* und *tsl* sind in den Tabellen Fig.101 und Fig.126 angegeben. Sonstige:

	Region:	enthält:	Referenz:
Df(1)FJ5	5E6,7	*swa*	Stephenson & Mahowald
Df(2)PC4	55A;55F	*stau*	Lindsley & Zimm (86)
T(Y;2)L139	56E		Lindsley & Sandler (72)
T(Y;2)L141	56F		Lindsley & Sandler (72)
T(Y;2)R93	57A		Lindsley & Sandler (72)
T(Y;2)L107	57B		Lindsley & Sandler (72)
Dp(2;y)R31	56F-57A;57F-58A-Y	*exu*	Lindsley & Sandler (72)
Df(2)Pu+D17	57B4-58B	*(tud)*	Lindsley & Zimm (86)
T(Y;3)A109	83E		Lindsley & Sandler (72)
T(Y;3)MA9	84B1,2		Lehmann (85)
Dp(3;3)Su^{1}-M(3)w	93E;95C	*tsl*	} hergestellt im Labor
Dp(3;3)Su-H2	92E;96A	*tsl*	} von Campos-Ortega

5. Rekombinanten

Folgende Rekombinanten zwischen embryonalletalen Mutationen wurden hergestellt:

bcd-tsl: *th st ri E1 roe p 035 e ca* — *th st ri E1 roe p 146*
th st ri E1 roe p 691 e ca — *th st ri E1 roe p 135*
th st ri E5 roe p 035 e ca — *st E4 146*

bcd-osk-tsl: *st E2 p 166 e 035 ca*
st E2 p 166 e 691 ca

bcd-hb: *th st ri E1 14F21 e*
th st cp in ri 2-13 9R12 cu sr e ca

bcd-tll: *th st ri E1 roe p e L1022*

bcd-Ubx: *st LIN p e Ubx109*

tsl-tll: *st 146 L1022*

tsl-Ubx: *Ubx109 146*

exu-stau: *cn HL54 PJ42 bw*
Df(2L)PC4 PJ42 bw — *b pr D3 QR9 bw*

exu-tor: *b cn WK34 PJ42 bw*
cn RL3 PJ42 bw

exu-BicD: *dp b 7134 cn PJ42 bw* — *IIIE48 pr cn PJ42 bw*

exu-BicC: *WC45 cn PJ42 bw*

exu-stau-BicD: *IIIE48 pr cn HL54 PJ42 bw*

exu-stau-tor: *b cn WK34 HL54 PJ42 bw*

exu-Kr: *cn PJ42 bw If Kr8*
cn PJ42 bw If KrXII

tor-BicD: *b 7134 cn RL3 bw*

tor-Kr: *b WK34 cn Kr8*

fs(1)N-swa *211 ec cv 1497 v*

fs(1)N-fs(1)ph *211 ec 1901*

Darüberhinaus standen folgende Rekombinanten zur Verfügung:

bcd-osk: *st E2 p 166 (ca?)* (Lehmann, unveröffentlicht)

stau-BicD: *b IIIE48 cn HL54 bw* (Lehmann, unveröffentlicht)
b 7134 HL54 bw

6. Stämme mit Mutationen auf verschiedenen Chromosomen zur Herstellung von Doppelmutanten

b pr cn wxt bw; bcdE1/TM3
swa^{1497}/FM7; st e/st
swa^{1497}/FM7; b pr cn wxt bw
exu^{PJ42}/Cyo; st e/st

Durch Röntgenbestrahlung wurden folgende Paare von Balancern über Translokationen miteinander gekoppelt:

FM7-CyO,bw / FM7-TM3,Ser / Pm-TM3,Ser

II UMGANG MIT DEN FLIEGEN

Die Fliegen können ihren Lebenszyklus in Plastikröhrchen mit Standardmedium (Agar, Malzextrakt, Maismehl u.a.) durchlaufen. Zur Erhaltung eines Stammes ist es ausreichend, die Tiere alle 2 Generationen in frische Röhrchen umzuquartieren. Die Fliegen werden zum Sortieren mit CO_2 betäubt. Für das Sammeln von Eiern werden sie auf Apfelsaft/Agarplatten mit Hefeklecksen gehalten. Ein gut genährtes Weibchen legt darauf etwa 60 Eier pro Tag ab. Genauere Anleitung, findet sich bei Roberts (86) und Wieschaus & Nüßlein-Volhard (86).

III MORPHOLOGIE

1. Lebendbeobachtung

Die Entwicklung läßt sich leicht am lebenden Objekt mitverfolgen. Die Eier brauchen lediglich mit Halocarbonöl überdeckt zu werden, um das Chorion transparent werden zu lassen. Insbesondere der Gastrulationsablauf läßt sich auf diese Weise relativ gut unter dem Binokular (80x) beobachten.

2. Kutikula Präparation (nach Van der Meer 77)

Die Eier werden in Drahtkörbchen gewaschen (0,7% NaCl, 0,02% Triton 100), und das Chorion in 50% Chlorix abgelöst. Dann stehen 3 Alternativen zur Wahl:

a) Die Eier werden trocken in eine Plastikschale überführt, wo sie mit der Vitellinmembran haften bleiben. Unter Wasser werden die Embryonen mit einer Glasnadel aus der Vitellinmembran befreit und mit einer Pipette auf einem Objektträger in ein Gemisch 1:1 Hoyers/Milchsäure überführt. Abdecken mit Deckglas.

b) Die Eier werden direkt in Hoyers/Milchsäure überführt und durch Drücken und Scheren des Deckglases aus der Vitellinmembran befreit. Wenn sich undifferenzierte Eier mit unter dem Deckglas befinden, verschmutzen sie allerdings das ganze Präparat.

c) Die Eier werden in Glycerin/Milchsäure bei 60°C für mehrere Stunden geklärt und erst danach die Vitellinmembran aufgebrochen; die Embryonen strecken sich dann weniger gut als in (b).

In allen drei Fällen wird das Präparat anschließend für 2-3 Tage bei 60°C aufbewahrt und geklärt.

3. Fuchsinfärbung, siehe Lehmann 1985

4. Histologische Schnitte, siehe Lehmann 1985

5. β-Galaktosidase Färbung (nach Hiromi et al. 1985)

- Heptan mit Glutaraldehyd in Cacodylatpuffer sättigen (2ml Heptan+1,5ml 25% Glutaraldehyd+0,5ml 0,2M Cacodylatpuffer(pH7,3),
- dechorionierte Embryonen für 12-15min in gesättigter Heptanlösung in einem Blockschälchen fixieren, Heptan absaugen,
- Insektenringer auf die Eier geben; gegebenenfalls Eier solange auf dem Ringer schwimmen lassen bis das Heptan vollständig evaporiert ist,
- Eier auf Doppelklebeband oder anderer klebriger Oberfläche in einem Plastikschälchen mit EM-Netzchen übertragen; mit Ringer überschichten,
- Embryonen mit Glasnadel aus Vitellinmembran befreien,
- Embryonen in ein Eppendorfgefäß pipettieren,
- mit Citratpuffer waschen,
- für einige Stunden in X-gal Lösung inkubieren bis gewünschte Färbung eintritt,
- waschen in Citratpuffer
- waschen in H_2O,
- waschen in 100% EtOH (Embryonen können darin für Wochen aufbewahrt werden),
- dann entweder in Faures einbetten, oder mit Fuchsin färben (siehe oben),

oder in Alkohol entwässern und über Propylenoxid, Propylenoxid/Araldit in Araldit einbetten.

Insektenringer: 8,6g NaCl+0,3gKCl+0,33g$CaCl_2x2H_2O$ in 1l aqu.dest., gepuffert mit 20mM TrisHCl pH7,5.

Citratpuffer: 2,75ml 0,1M Zitronensäure + 97,25ml 0,2M Na_2HPO_4 [2,1g/100ml] [17,8g/500ml]

X-gal Lösung (jeweils frisch ansetzten): 775µl Zitratpuffer pH8
100µl 50mM $K_3[Fe(III)(CN)_6]$
100µl 50mM $K_4[Fe(II)(CN)_6]$
25µl 8% β-Galaktosidase in Dimethylformamid
vor Gebrauch in Eppendorfzentrifuge zentrifugieren (3min)

IV TRANSPLANTATIONEN

1. Polzelltransplantationen
Siehe Frohnhöfer (82); für Spender und Empfänger können jüngere Embryonen verwendet werden als dort angegeben.

2. Zytoplasmatransplantationen
Siehe Frohnhöfer und Nüßlein-Volhard (86).

In der Regel wurde Zytoplasma aus 10-15 Donoren aufgesammelt und auf eine etwa gleichgroße Anzahl von Rezipienten wieder verteilt. Abgesehen von den Polplasmatransplantationen ist die absolute Menge an transplantiertem Zytoplasma dabei nur schwer zu kontrollieren. Dies gilt vor allem für die Experimentierphase, in der noch nicht klar ist, welche Volumina aufgewendet werden müssen um morphologisch sichtbare Effekte hervorzubringen (z.B. Transplantation nicht-terminaler abdominaler Aktivität, Injektionen in *tsl*). Um Embryonen unterschiedlichen Genotyps gut vergleichen zu können, wurden sie in den selben experimentellen Serien zusammen behandelt (z.B. Untersuchung der *bcd*$^{+}$ Gendosis in den Donoren).

V TEMPERATUR-SHIFT EXPERIMENTE

a) Nach der Eiablage: 3-Stunden Gelege bei 29°C und 6-7 stündige Gelege bei 18°C enthalten alle Entwicklungsstadien der Embryonen zwischen Eiablage und Gastrulation. Die Agarplatten mit solchen Gelegen werden von 18°C --> 29°C bzw. von 29°C --> 18°C gebracht und dort kurz auf einen Kupferblock gelegt, um die Temperatur im Agar schnell anzugleichen. In anderen Fällen wurden die Eier zuerst in einem Netzchen gewaschen und dann auf einer neuen vortemperierten Agarplatte wieder ausgelegt. Danach werden die Embryonen, die jeweils nach einem bestimmten Zeitintervall die Gastrulation initiiert haben, einzusammeln. Mit Sammelperioden von 10min bei 29°C und 20min bei 18°C wird die Entwicklungszeit zwischen Eiablage und Gastrulation in etwa 14 Stadien zerlegt. Für jede eingesammelte Portion von Embryonen läßt sich das Alter beim Shift als zeitlicher Abstand zwischen Shift und Gastrulation angeben. Im Falle eines Pulsshifts müssen die Agarplatten mit den Eiern während der Sammelperiode ein zweites mal transferiert werden. Von den Embryonen werden nach 1-2 Tagen Kutikula-Präparate hergestellt.

b) Vor der Eiablage: Um die Temperatursensitivität während der Oogenese zu prüfen, werden die Fliegen einem Temperaturshift ausgesetzt. Danach werden die Agarablageplatten in regelmäßigen Abständen gewechselt; die Embryonen auf einer Platte werden ohne direkte Prüfung einer Altersgruppe zugerechnet. Bei diesem Vorgehen wird ein kleiner Fehler in Kauf genommen, da die Fliegen bisweilen Eier erst in einem fortgeschrittenen Entwicklungsstadium ablegen.

Akam M.E., Martinez-Arias A. (1985). The distribution of *Ultrabithorax* transcripts in *Drosophila* embryos. EMBO J. 4:1689-1700.

Anderson D.T. (1973). Embryology and Phylogeny in Annelids and Arthropods. Pergamon Press Oxford.

Anderson K.V., Bokla L., Nüsslein-Volhard C. (1985a). Establishment of dorsal-ventral polarity in the *Drosophila* embryo: The induction of polarity by the *Toll* gene product. Cell 42:791-798.

Anderson K.V., Jürgens G., Nüsslein-Volhard C. (1985b). The establishment of dorsol-ventral polarity in the *Drosophila* embryo: Genetic studies on the role of the *Toll* gene product. Cell 42:779-789.

Anderson K.V., Nüsslein-Volhard C. (1984). Information for the dorso-ventral pattern of the *Drosophila* embryo is stored as maternal mRNA. Nature 311:223-227.

Boswell R., Mahowald A.P. (1985). tudor, a gene required for assembly of the germ plasm in *Drosophila melanogaster*. Cell 43:97-104.

Bull A.L. (1966). *bicaudal*, a genetic factor which affects the polarity of the embryo in *Drosophila melanogaster*. J.Exp.Zool. 161:221-242.

Busson D., Gans M., Komitopoulou K., Masson M. (1983). Gentic analysis of three dominant female-sterile mutations located on the X chromosome. Genetics 105:309-325.

Campos-Ortega J.A., Hartenstein V. (1985). The embryonic development of *Drosophila melanogaster*. Springer Verlag.

Caroll S.B., Winslow G.M., Schüpbach T., Scott M.P. (1986). Maternal control of *Drosophila* segmentation gene expression. Nature 323:278-280.

Carroll S.B., Scott M.P. (1985). Localization of the *fushi tarazu* protein during *Drosophila* embryogenesis. Cell 43:47-57.

Carroll S.B., Scott M.P. (1986). Zygotically active genes that affect the spatial expression of the *fushi tarazu* segmentation gene during early *Drosophila* embryogenesis. Cell 45:113-126.

Chan L.N., Gehring W. (1971). Determination of blastoderm cells in *Drosophila melanogaster*. Proc.natn.Acad. Sci.USA 68:2217-2222.

Degelmann A., Hardy P.A., Perrimon N., Mahowald A.P. (1986). Developmental analysis of the torso-like phenotype

in *Drosophila* produced by a maternal-effect locus. Devl.Biol. 115:479-489.

Doyle H.J., Harding K., Hoey T., Levine M. (1986). Transcripts encoded by a homoeo box gene are restricted to dorsal tissues of *Drosophila* embryos. Nature 323:77-79.

Duncan I.M., Kaufman T.C. (1975). Cytogenetic analysis of chromosome 3 in *Drosophila melanogaster*: Mapping of the proximal portion of the right arm. Genetics 80:733-752.

Foe V.E., Alberts B.M. (1983). Studies of nuclear and cytoplasmic behaviour during the five mitotic cycles that precede gastrulation in *Drosophila* embryogenesis. J.Cell Sci. 61:31-70.

Frey A., Gutzeit H. (1986). Follicle cells and germ line cells both affect polarity in the *dicephalic* chimeric follicles of *Drosophila*. Roux's Arch.Dev. Biol. 195:527-531.

Frey A., Sander K., Gutzeit H. (1984). The spatial arrangement of germ line cells in ovarian follicles of the mutant *dicephalic* in *Drosophila melanogaster*. Roux's Arch.Dev.Biol. 193:388-393.

Frigerio G., Burri M., Bopp D., Baumgartner S., Noll M. (1986). Structure of the segmentation gene *paired* and the *Drosophila* PRD gene set as part of a gene network. Cell 47:735-746.

Frohnhöfer H.G. (1982). Abgrenzung maternaler und zygotischer Anteile bei der genetischen Kontrolle der Musterbildung in *Drosophila melanogaster*. Diplomarbeit, Tübingen.

Frohnhöfer H.G., Lehmann R., Nüsslein-Volhard C. (1986). Manipulating the anteroposterior pattern of the *Drosophila* embryo. J. Embryol. exp. Morph. 97 Suppl.: 196-179.

Frohnhöfer H.G., Nüsslein-Volhard (1987). Maternal genes required for the anterior localization of *bicoid* activity in the embryo of *Drosophila*. In Vorbereitung.

Frohnhöfer H.G., Nüsslein-Volhard C. (1986). Organisation of anterior pattern in the *Drosophila* embryo by the maternal gene *bicoid*. Nature 324:120-125.

Gans M., Audit C., Masson M. (1975). Isolation and characterisation of sex-linked female-sterile mutants in *Drosophila melanogaster*. Genetics 81: 683-704.

Gergen J.P., Wieschaus E.F. (1986). Localized requirements for gene activity in segmentation of *Drosophila* embryos: analysis of *armadillo, fused, giant* and *unpaired* mutations in mosaic embryos. Roux's Arch.

Dev.Biol. 195:49-62.

Godt D. (1984). Über den Beitrag des maternalen Genes *cactus* zur genetischen Kontrolle der dorsoventralen Musterbildung im Embryo von *Drosophila melanogaster*. Diplomarbeit, Tübingen.

Hafen E., Kuroiwa A., Gehring W.J. (1984). Spatial distribution of transcripts from the segmentation gene *fushi tarazu* during *Drosophila* early development. Cell 37:833-841.

Hartenstein V., Campos-Ortega J.A. (1985). Fate-mapping in wild-type *Drosophila melanogaster*. I. The spatio-temporal pattern of embryonic cell divisions. Roux's Arch.Dev.Biol. 194:181-195.

Hartenstein V., Technau G.M., Campos-Ortega J.A. (1985). Fate-mapping in wild-type *Drosophila melanogaster*. III. A fate map of the blastoderm. Roux's Arch.Dev. Biol. 194:213-216.

Hazelrigg T., Kaufman T.C. (1983). Revertants of dominant mutations associated with the *Antennapedia* gene complex of *Drosophila melanogaster*: Cytology and genetics. Genetics 105:581-600.

Herth W., Sander K. (1973). Mode and timing of body pattern formation (regionalization) in the early development of cyclorhaphic dipterans *(Protophormia, Drosophila)*. Wilhelm Roux's Arch. Entw.Mech.Org. 172:1-27.

Hiromi Y., Kuroiwa A., Gehring W.J. (1985). Control elements of the *Drosophila* segmentation gene *fushi tarazu*. Cell 43:603-613.

Illmensee K., Mahowald A.P. (1974). Transplantation of the posterior pole plasm in *Drosophila*. Induction of germ cells at the anterior pole of the egg. Proc. natn.Acad.Sci.U.S.A. 71:1016-1020.

Illmensee K., Mahowald A.P., Loomis M.R. (1976). The ontogeny of germ plasm during oogenesis in *Drosophila*. Devl.Biol. 49:40-65.

Ingham P., Martinez-Arias A., Lawrence P.A., Howard K. (1985). Expression of *engrailed* in the parasegment of *Drosophila*. Nature 317:634-636.

Ingham P.W., Howard K.R., Ish-Horowicz D. (1985b). Transcription pattern of the *Drosophila* segmentation gene *hairy*. Nature 318:439-445.

Ingham P.W., Ish-Horowicz D., Howard K.R. (1986). Correlative changes in homoeotic and segmentation gene expression in *Krüppel* mutant embryos of *Drosophila*. EMBO 5:1659-1665.

Jäckle H., Tautz D., Schuh R., Seifert E., Lehmann R.

(1986). Cross-regulatory interactions among the gap genes of *Drosophila*. Nature 324:668-670.

Jürgens G. (1987). Segmental organisation of the tail region in the embryo of *Drosophila melanogaster* A blastoderm fate map of the cuticle structures of the larval tail region. Roux's Arch.Dev.Biol. 196: 141-157.

Jürgens G., Lehmann R.E., Schardin M., Nüsslein-Volhard C. (1986). Segmental organisation of the head in the embryo of *Drosophila melanogaster*. Roux's Arch.Dev. Biol. 195:359-377.

Jürgens G., Wieschaus E., Nüsslein-Volhard C., Kluding H. (1984). Mutations affecting the pattern of the larval cuticle in *Drosophila melanogaster*. II. Zygotic loci on the third chromosome. Roux's Arch. Dev.Biol. 193:359-377.

Jung E. (1966). Untersuchungen am Ei des Speisebohnenkäfers *Bruchidius obtectus Say* (Coleoptera). Wilhelm Roux Arch.Entw.Mech. 157:320-392.

Kalthoff K., Elbetieha A. (1986). Transplantation of localized anterior determinants in *Chironomus* eggs by microinjection. J.Embryol.exp.Morph. 97 Suppl.:181-196.

Kandler-Singer I., Kalthoff K. (1976). RNase sensitivity of an anterior morphogenetic determinant in an insect egg (*Smittia sp., Chironomidae*, Diptera). Proc. natn.Acad.Sci.USA 73:3739-3743.

Kaufman S.A. (1980). Heterotopic transplantation in the syncytial blastoderm of *Drosophila*: Evidence for anterior and posterior nuclear commitments. Roux's Arch.Dev.Biol. 189:135-145.

Kilchherr F., Baumgartner S., Bopp D., Frei E., Noll M. (1986). Isolation of the paired gene of *Drosophila* and its spatial expression during early embryogenesis. Nature 321:493-499.

Knipple D., Seifert E., Rosenberg U.B., Preiss A., Jäckle H. (1985). Spatial and temporal pattern of *Krüppel* gene expression in early *Drosophila* embryos. Nature 317:40-44.

Komitopoulou K., Gans M., Margeritis L.H., Kafatos F.C., Masson M. (1983). Isolation and characterization of sex-linked female-sterile mutants in *Drosophila melanogaster* with special attention to eggshell mutants. Genetics 105:897-920.

Lehmann R.E. (1985). Regionsspezifische Segmentierungsmutanten bei *Drosophila melanogaster Meigen*. Dissertation Tübingen.

Lehmann R., Nüsslein-Volhard C. (1986). Abdominal

segmentation, pole cell formation, and embryonic polarity require the localized activity of *oskar*, a maternal gene in *Drosophila*. Cell 47:141-152.

Lehmann R., Nüsslein-Volhard (1987). *hunchback*, a gene required for segmentation of an anterior and posterior region of the *Drosophila* embryo. Devl. Biol. 119:402-414.

Levine M., Hafen E., Garber R.L., Gehring W. (1983). Spatial distribution of *Antennapedia* transcripts during *Drosophila* development. EMBO J. 2:2037-2046.

Lewis E.B. (1978). A gene complex controlling segmentation in *Drosophila*. Nature 276:565-570.

Lindsley D., Zimm G. (1986). The genome of *Drosophila melanogaster*. Part1: Genes A-K (and Deficiencies). Dros.Inf.Serv. 62:1-227.

Lindsley D.L., Grell E.H. (1968). Genetic variations of *Drosophila melanogaster*. Carnegie Inst. Wash. Publ. No.627.

Lindsley D.L.& Sandler L., and Baker B.S., Carpenter A.T.C., Denell R.E., Hall J.C., Jacobs P.A., Miklos G.L.G., Davis B.K., Gethman R.C., Hardy R.W., Hessler A., Miller S.M., Nozawa H., Parry D.M., and Gould-Somero M. (1972). Segmental aneuploidy and the genetic gross structure of the *Drosophila* genome. Genetics 71:157-184.

Lohs-Schardin M. (1982). *dicephalic*, a *Drosophila* mutant affecting polarity in follicle organisation and embryonic patterning. Wilhelm Roux's Arch. 191:28-36.

Lohs-Schardin M., Cremer C., Nüsslein-Volhard C. (1979). A fatemap for the larval epidermis of *Drosophila melanogaster*: Localized cuticle defects following irradiation of the blastoderm with an UV-laser microbeam. J.Exp.Zool. 167:201-215.

Macdonald M., Struhl G. (1986). A molecular gradient in early *Drosophila* embryos and its role in specifying the body pattern. Nature 324:537-545.

Mahoney P.A., Lengyel J.A. (1987). The zygotic segmentation mutant *tailless* alters the blastoderm fate map of the *Drosophila* embryo. Devl.Biol.: in Druck.

Mahowald A.P. (1962). Fine stucture of pole cells and polar granules in *Drosophila melanogaster*. J.Exp.Zool. 151:211-215.

Martinez-Arias A., Lawrence P.A. (1985). Parasegments and compartments in the *Drosophila* embryo. Nature 313: 639.

Mayer U. (1986). Phänotypische und genetische Untersuchungen an Genen der *"spitz"*-Gruppe von *Drosophila melanogaster*. Diplomarbeit, Tübingen.

Meinhardt H. (1977). A model for pattern formation in insect embryogenesis. J.Cell.Sci. 23:117-139.

Meinhardt H. (1986). Hierarchical inductions of cell states: A model for segmentation in *Drosophila*. J.Cell Sci. Suppl.4:357-381.

Miya K. (1965). The embryonic development of the chrysomelid beetle *Atrachya menetriesi Faldermann* (Coleoptera, Chrysomelidae). I. The stages of development and changes of external form. J.Fac.Agric.Iwate Univ., Morioka 7:155-166.

Miya K., Kobayashi Y. (1974). The embryonic development of *Atrachya menetriesi Faldermann* (Coleoptera, Chrysomelidae). II. Analysis of early development by ligation and low temperature treatment. J.Fac. Agric.Iwate Univ.,Morioka 12:39-55.

Mlodzik M., Fjose A., Gehring W.J. (1985). Isolation of *caudal*, a *Drosophila* homeo box-containing gene with maternal expression, whose transcripts form a concentration gradient at the pre-blastoderm stage. EMBO J. 4:2961-2969.

Mohler D. (1977). Developmental genetics of the *Drosophila* egg. I. Identification of 59 sex linked cistrons with maternal effects on embryonic development. Genetics 85:259-279.

Mohler D., Carroll A. (1984). Report of Dawson Mohler and Andrea Carroll. Sex-linked female-sterile mutations in the Iowa collection. Dros.Inf.Serv. 60:236-241.

Mohler J., Pardue M.L. (1984). Mutational analysis of the region surrounding the 93D heat shock locus of *Drosophila melanogaster*. Genetics 106:249-265.

Mohler J., Wieschaus E.F. (1986). *Bicaudal* mutations of *Drosophila melanogaster*: alterations of blastoderm cell fate. Cold Spring Harbor Symp. Quant. Biol. 50:105-111.

Mohler J., Wieschaus E.F. (1985). Dominant maternal-effect mutations of *Drosophila melanogaster* causing the production of double-abdomen embryos. Genetics 112:803-822.

Mundry C. (1984). Ein molekulares Modell zur Kontrolle der dorso-ventralen Musterbildung bei *Drosophila*. Diplomarbeit, Tübingen.

Nüsslein-Volhard C. (1977). Genetic analysis of pattern-formation in the embryo of *Drosophila melanogaster*. Wilhelm Roux's Arch. 183:249-268.

Nüßlein-Volhard C., Lohs-Schardin M., Sander K., Cremer C. (1980). A dorso-ventral shift of embryonic primordia

in a new maternal-effect mutant of *Drosophila*. Nature 283: 474-476.

Nüsslein-Volhard C., Kluding H., Jürgens G. (1985). Genes affecting the segmental subdivision of the *Drosophila* embryo. Cold Spring Harbor Symposia on Quantitative Biology Vol L:145-154.

Nüsslein-Volhard C., Wieschaus E. (1980). Mutations affecting segment number and polarity in *Drosophila*. Nature 287:795-801.

Nüsslein-Volhard C., Wieschaus E., Kluding H. (1984). Mutations affecting the pattern of the larval cuticle in *Drosophila melanogaster*. I. Zygotic loci on the second chromosome. Roux's Arch.Dev. Biol. 193:267-282.

Okada M. (1986). Cytoplasmic function segregating germ line in *Drosophila* embryogenesis. Zoological Science 3: 573-583.

Perondini A.L.P., Gutzeit H.O., Sander K. (1987). Double abdomen induction by UV in *Bradysia tritici* (syn. Sciara ocellaris Sciaridae). Sensitive stages and conditions for photoreversal. Roux's Arch.Dev.Biol. 196:268-272.

Perrimon N., Engstrom L., Mahowald A.P. (1984). The effects of zygotic lethal mutations on female germ-line functions in *Drosophila*. Devl.Biol. 105:404-414.

Perrimon N., Engstrom L., Mahowald A.P. (1985). A pupal lethal mutation with a paternally influenced maternal effect on embryonic development in *Drosophila melanogaster*. Devl.Biol. 110:480-491.

Perrimon N., Gans M. (1983). Clonal analysis of the tissue specificity of recessive female-sterile mutations of *Drosophila melanogaster* using a dominant female-sterile mutation *Fs(1)K1237*. Devl.Biol. 100:365-373.

Perrimon N., Mahowald A.P. (1987). Multiple functions of segment polarity genes in *Drosophila*. Devl.Biol. 118:587-600.

Perrimon N., Mohler D., Engstrom L., Mahowald A.P. (1986). X-linked female-sterile loci in *Drosophila melanogaster*. Genetics 113:695-712.

Preiss A. (1985). Molekulargenetische Analyse von *Krüppel*, ein Segmentierungsgen von *Drosophila melanogaster* Meigen. Dissertation, Tübingen.

Rice T.B., Garen A. (1975). Localized defects of blastoderm formation in maternal effect mutants of *Drosophila*. Devl.Biol. 43:277-286.

Roberts D.B. Basic *Drosophila* care and techniques. In: *Drosophila* a practical approach. Hrsg. D.B.Roberts,

IRL-Press Oxford. (1986).

Sanchez-Herrero I., Vernos I., Marco R., Morata G. (1985). Genetic organisation of *Drosophila bithorax* complex. Nature 313:108-113.

Sander K. (1959). Analyse des ooplasmatischen Reaktionssystems von *Euscelis plebejus Fall* (Cicadina) durch Isolieren und Kombinieren von Keimteilen I. Mitteilungen. Wilhelm Roux Arch.Entw. Mech.Org. 151:430-497.

Sander K. (1960). Analyse des ooplasmatischen Reaktionssystems von *Euscelis plebejus Fall* (Cicadina) durch Isolieren und Kombinieren von Keimteilen. II. Die Differenzierungsleistung nach Verlagern von Hinterpolmaterial. Wilhelm Roux Arch. Entw.Mech.Org. 151:660-707.

Sander K. (1976). Specification of the basic body pattern in insect embryogenesis. Adv.Ins.Physiol. 12:125-238.

Schmidt O., Zissler D., Sander K., Kalthoff K. (1975). Switch in pattern formation after puncturing the anterior pole of *Smittia* eggs (chironomidae, diptera). Devl.Biol. 46:216-221.

Schubiger G., Moseley R.C., Wood W. (1977). Interaction of different egg parts in determination of various body regions in *Drosophila melanogaster*. Proc.natn. Acad.Sci.USA 74:2050-2053.

Schüpbach T., Wieschaus E. (1986b). Germline autonomy of maternal-effect mutations altering the embryonic body pattern of *Drosophila*. Devl.Biol. 113:443-448.

Schüpbach T., Wieschaus E. (1986). Maternal-effect mutations altering the anterior-posterior pattern of the *Drosophila* embryo. Roux's Arch.Dev.Biol. 195:302-317.

Seidel F. (1929). Untersuchungen über das Bildungsprinzip der Keimanlage im Ei der Libelle *Platycnemis pennipes* I-V. Wilhelm Roux Arch.Entw.Mech.Org. 119: 322-440.

Simcox A.A., Sang J.H. (1983). When does determination occur in *Drosophila* embryos? Devl.Biol. 97:212-221.

Stephenson E.C., Mahowald A.P. Isolation of *Drosophila* clones encoding maternally-restricted RNAs. In Vorbereitung.

Strecker T.R., Kongsuwan K., Lengyel J.A., Merriam J.A. (1986). The zygotic mutant tailless affects the anterior and posterior ectodermal regions of the *Drosophila* embryo. Devl.Biol. 113:64-76.

Technau G.M., Campos-Ortega J.A. (1985). Fate-mapping in wild-type *Drosophila melanogaster*. II. Injections

of horseradish peroxidase in cells of the early gastrula stage. Roux's Arch.Dev.Biol 194:196-212.

Technau G.M., Campos-Ortega J.A. (1986). Lineage analysis and proliferative capabilities of pole cells and midgut progenitors. Roux's Arch.Devl.Biol. 195:489-498.

Turner F.R., Mahowald A.P. (1977). Scanning electron microscopy of *Drosophila* embryogenesis. 2. Gastrulation and segmentation. Devl.Biol. 57:403-416.

Underwood E.M., Turner F.R., Mahowald A.P. (1980). Analysis of cell movements and fate mapping during early embryogenesis in *Drosophila melanogaster*. Devl.Biol. 74:286-301.

Van der Meer J. (1977). Optical clean and permanent whole mount preparation for phase contrast microscopy of cuticular structures of insect larva. Dros.Inf. Serv. 52:160.

Wakimoto B.T., Turner F.R., Kaufman T.C. (1984). Defects in embryogenesis in *Drosophila melanogaster* in mutants associated with the *Antennapedia* gene complex. Devl.Biol. 102:147-172.

Weir P.W., Kornberg T. (1985). Patterns of *engrailed* and *fushi tarazu* transcripts reveal novel intermediate stages in *Drosophila* segmentation. Nature 318:433-439.

Wieschaus E., Audit C., Masson M. (1981). A clonal analysis of the roles of somatic cells and germ line during oogenesis in *Drosophila*. Devl.Biol. 88:92-103.

Wieschaus E., Marsh J.L., Gehring W. (1978). *fs(1)K10*, a germline-dependent female sterile mutation causing abnormal chorion morphology in *Drosophila melanogaster*. Wilhelm Roux's Arch. 184:75-82.

Wieschaus E., Nüsslein-Volhard C. Looking at embryos. In: *Drosophila*, a practical approach. Hrsg. E.D. Roberts, IRL Press (1986).

Wieschaus E., Nüsslein-Volhard C., Jürgens G. (1984). Mutations affecting the pattern of the larval cuticle in *Drosophila melanogaster*. III.Zygotic loci on the X-Chromosome and fourth chromosome. Roux's Arch.Devl.Biol. 193:296-307.

Wieschaus E., Nüsslein-Volhard C., Kluding H. (1984). *Krüppel*, a gene whose activity is required early in the zygotic genome for normal embryonic segmentation. Devl.Biol. 104:172-186.

Wieschaus E., Riggleman R. (1987). Autonomous requirements for the segment polarity gene *armadillo* during *Drosophila* embryogenesis. Cell 49:177-184.

Yajima H. (1960). Studies on embryonic determination of the harlequin-fly *Chironomus dorsalis*. I. Effect of centrifugation and of its combination with constriction and puncturing. J.Embryol.exp.Morph. 8:198-215.

Yajima H. (1964). Studies on embryonic determination of the harlequin-fly *Chironomus dorsalis*. II. Effects of partial irradiation of the egg by ultraviolet light. J.Embryol.exp.Morph. 12:89-100.

Zalokar M., Audit C., Erk I. (1975). Developmental defects of female-sterile mutants of *Drosophila melanogaster*. Devl.Biol. 47:419-432.

Zalokar M., Erk I. (1976). Division and migration of nuclei during early embryogenesis of *Drosophila melanogaster*. J.Microsc.Biol.Cell. 25:97-106.

Zissler D., Sander K. (1973). The cytoplasmic architecture of the egg cell of *Smittia sp.* (Diptera, Chironomidae). I. Anterior and posterior pole regions. Wilhelm Roux's Arch.Entw.Mech.Org. 172: 175-186.

Lebenslauf

H a n s G e o r g F r o h n h ö f e r

15.11.1954	Geburt in Auerbach/Oberpfalz Eltern: Josef und Hedwig Frohnhöfer
1961-1965	Volksschule in Auerbach
1965-1974	Neues Gymnasium in Nürnberg
1976-1978	Studium der Biologie in Würzburg
1978-1981	Studium der Biologie in Tübingen Mündliche Diplomhauptprüfung in Biologie
1982	Anfertigung einer Diplomarbeit unter Anleitung von Herrn Prof. Dr. A. Gierer und Dr. C. Nüßlein-Volhard am Friedrich-Miescher-Laboratorium in Tübingen. Diplom der Biologie der Fakultät für Biologie, Eberhard-Karls-Univeristät Tübingen
1983-1987	Anfertigung der Doktorarbeit unter Anleitung von Prof. Dr. F. Bonhoeffer und Dr. C. Nüßlein-Volhard am Max-Planck-Institut für Entwicklungsbiologie in Tübingen: Maternale Gene und die Anlage des antero-posterioren Musters in Drosophila Embryonen.

Meine akademischen Lehrer waren:

Adam, Tübingen

Anderson, Tübingen

Bentrup, Tübingen

Dahmen, Tübingen

Emmert, Würzburg

Jäckle, Tübingen

Jürgens, Tübingen

Lange, Würzburg

Kleine-Schonnefeld, Tübingen

Mickoleit, Tübingen

Nüßlein-Volhard, Tübingen

Sauer, Würzburg

Sperlich, Tübingen

Varjú, Tübingen

Wöhrmann, Tübingen

Offsetdruck Spengler
Lessingstraße 4 · 7401 Neustetten 1
Telefon (0 74 72) 2 21 45